

Mestrado Integrado em Engenharia Química

Remoção de amoxicilina de matrizes aquosas por adsorção em leito fixo com casca de amêndoa carbonizada

Tese de Mestrado

desenvolvida no âmbito da disciplina de

Projecto de Desenvolvimento em Ambiente Académico

José Avelino Alves Andrade da Silva



Departamento de Engenharia Química

Orientador: Professora Doutora Lúcia Santos

Julho de 2009

Agradecimentos

Queria agradecer à minha Orientadora Professora Doutora Lúcia Santos pela boa orientação que me concedeu e pela confiança que depositou nas minhas capacidades. Queria também agradecer todo o encorajamento nos momentos mais difíceis deste projecto e pelos estímulos com que me incentivou a levar este trabalho sempre um pouco mais além dos objectivos.

À Professora Doutora Arminda Alves agradeço todo o seu apoio na parte analítica e pela oportunidade que me deu em aprender mais sobre esta área interessante.

Ao Departamento de Engenharia Química da Universidade do Porto e em especial ao LEPAE agradeço a disponibilização de todo material, equipamento e instalações, mas também a oportunidade de trabalhar numa unidade de investigação de renome.

À comercializadora *Carqueja Almonds, Lda.* agradeço todo o empenho em me providenciar a casca de amêndoa, bem como o interesse manifestado em encontrar novas utilidades para a utilização deste produto. Ao CEMUP e ao LCM agradeço as análises céleres de todas as amostras, bem como toda a ajuda na interpretação dos dados. Gostava de agradecer ao Hugo Gaspar (FCUP) o apoio na preparação da pastilha de casca de amêndoa.

Aos meus pais e irmãos gostaria de agradecer do fundo do meu coração todo o amor e todo o carinho que sempre me ofereceram durante a minha vida, nos bons e nos maus momentos e especialmente durante esta fase especial.

Gostaria de manifestar a minha gratidão eterna a umas pessoas muito especiais que no momento de maior escuridão e dor souberam trazer nova luz e alegria. Prometo estimar esta dádiva para sempre. Também gostaria de agradecer a todos que contribuíram para que isso fosse possível.

Aos funcionários do DEQ, D^a. Arminda, Sr. Sousa Vale, Luís Martins e Luís Carlos gostava de agradecer toda a simpatia e todo o apoio técnico. Ao Zé Luís e à Fátima agradeço toda a amizade e simpatia. Ao Sr. Serafim agradeço todas as “engenharias” que me permitiram vencer muitas dificuldades técnicas, mas acima de tudo, agradeço todas as conversas interessantes. A todas as pessoas do laboratório, Joana, Salomé, José e Rui quero agradecer todos os bons momentos passados e sobretudo por mostrarem que a alegria é um reagente essencial.

E nunca me poderia esquecer de agradecer às minhas amigas, Ritinha, Raquel (Mé) e Raquel Kritinas, Elisabete, Mónica e Ângela por toda amizade e por todo o carinho. Se cada sorriso que sorrimos nos dá mais segundos de vida, certamente viveremos para sempre. Finalmente gostaria de agradecer à Vera, sem ela este projecto nunca teria sido possível. Estou grato por todo o apoio, durante longas horas. Queria agradecer toda motivação que nos momentos mais difíceis soube dar e pela ajuda a vencer os obstáculos mais difíceis. Mas acima de tudo quero agradecer a sua amizade, que tornou esta etapa da minha vida especial. Os romanos costumavam dizer *nomen est omen* (o nome é um presságio) neste caso tiveram razão, Vera é realmente uma boa amiga.

A todos que não referi pessoalmente peço desculpa, certamente compreenderão o meu lapso, fica aqui o meu agradecimento.

Resumo

A presença de antibióticos no ambiente encontra-se comprovada por diversos estudos. Num contexto de um aumento significativo da população mundial e do conseqüente aumento de pressão sobre os recursos hídricos, torna-se necessário desenvolver tecnologias que visam proteger este bem essencial.

O presente trabalho visa desenvolver uma metodologia capaz de minimizar as descargas destes micropoluentes para o meio hídrico, bem como avaliar todos os parâmetros que permitem maximizar este objectivo.

A amoxicilina foi escolhida como composto de estudo, pela sua disseminação por vários meios aquáticos e por ser um composto amplamente prescrito em clínica geral.

Com o intuito de dar uma mais-valia a produtos excedentários da indústria agrícola, utilizou-se a casca de amêndoa carbonizada como adsorvente. Estudou-se este material a nível estrutural e químico, concluindo que é um material com uma superfície externa ($78,5 \text{ m}^2.\text{g}^{-1}$) bastante inferior à do carvão activado, embora neste caso não tenha sido determinada a área relativa aos microporos. A determinação da carga superficial permitiu concluir que a casca de amêndoa carbonizada possui um comportamento anfotérico. Por meio de análise termogravimetria verificou-se que o processo de carbonização reduziu drasticamente o teor em matéria volátil, aumentando a percentagem mássica de carbono fixo para 75,9 %. Através de análise elementar, constatou-se que o adsorvente é essencialmente constituído por carbono. A microscopia electrónica de varrimento confirmou a homogeneidade das partículas quanto à sua dimensão e forma e conclui-se que os poros se encontram distribuídos por toda superfície, sendo na sua maioria macroporos.

Utilizando este material adsorvente efectuaram-se ensaios em colunas de leito fixo com diferentes alturas de leito ($L = 2\text{-}6 \text{ cm}$), concentrações de amoxicilina ($C = 0,25\text{-}10 \text{ mg.L}^{-1}$) e caudais de alimentação ($Q = 6\text{-}12 \text{ mL.min}^{-1}$).

De modo a quantificar os resultados experimentais foi desenvolvido, optimizado e validado um método analítico em HPLC-DAD, utilizando como fase móvel uma mistura de água e metanol. Os limites de detecção e de quantificação da amoxicilina foram de $9 \text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$ e $29 \text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$, respectivamente.

As experiências permitiram concluir que um aumento de concentração, aumentou a quantidade adsorvida de amoxicilina, mas também reduziu o tempo de *breakthrough*. Um aumento da altura do leito produziu um aumento na quantidade de amoxicilina adsorvida e do tempo de *breakthrough*. Para caudais de alimentação maiores, o tempo de *breakthrough* foi menor, bem como a quantidade retida de amoxicilina. Foram aplicados aos dados experimentais os modelos de Bohart-Adams, BDST, Thomas, Yoon-Nelson, Wolborska e Chu. Os parâmetros inerentes aos modelos foram calculados por regressão não linear. Nenhum destes modelos foi capaz de prever satisfatoriamente os resultados experimentais.

Palavras Chave (Tema):

Adsorção, leito fixo, amoxicilina, casca de amêndoa, HPLC-DAD.

Abstract

The presence of antibiotics in the ecosystem has been confirmed by several studies. The exponential growth of populations creates an increasing demand for water resources. Therefore it is essential to develop new technologies, in order to protect this essential supply.

The purpose of the present work was to develop a methodology capable of minimizing the micropollutants discharges into the aquatic environment and evaluate the parameters that allow maximizing of this objective.

Amoxicillin was chosen due to its dissemination in different aquatic ecosystems and because of being one of the most prescribed antibiotics.

In order to increase market value of agricultural by-products, almond shell ashes were used as adsorbent. Structure and the chemical composition of this material were studied, concluding that the external surface ($78,5 \text{ m}^2.\text{g}^{-1}$) was significantly lower than of activated carbon (although micropore areas were not determined). The determination of surface charge indicated that almond shell ashes have an amphoteric behaviour. Thermogravimetric analysis showed that the carbonization process decreased drastically volatile matter, increasing at the same time mass fraction of fixed carbon to 75,9%. Elementary analysis confirmed that this material is essentially constituted by carbon and scanning electronic microscopy showed that the adsorbent particles have homogeneous shapes and diameters. Pores are distributed along all surface, being mostly macropores.

Using this adsorbent material, fixed bed assays were performed with different bed lengths ($L = 2\text{-}6 \text{ cm}$), amoxicillin concentrations ($C = 0,25\text{-}10 \text{ mg.L}^{-1}$) and feed flow rates ($Q = 6\text{-}12 \text{ mL.min}^{-1}$).

In order to quantify the experimental results, an analytical methodology in HPLC-DAD, using as mobile phase a mixture of water and methanol, was developed, optimized and validated. The detection and quantification limits were $9 \text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$ and $29 \text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$, respectively.

Experiments indicated that an increase in the amoxicillin concentration increased the amount adsorbed, but also reduced the breakthrough time. An increase in bed length produced an increase of the amount of adsorbed amoxicillin and an increase in the breakthrough time. For higher flow rates, breakthrough time was lower as well as the quantity of amoxicillin retained.

The models of Bohart-Adams, BDST, Thomas, Yoon-Nelson, Wolborska and Chu were applied to the experimental data. Parameters related to these models were calculated by nonlinear regression. None of these models was able to predict satisfactorily the experimental results.

Keywords:

Adsorption, fixed bed, amoxicillin, almond shell, HPLC-DAD.

Zusammenfassung

Antibiotika in der Umwelt wurden durch diverse Studien nachgewiesen. Mit wachsender Weltbevölkerung und dem dadurch bedingten Anstieg des Wasserverbrauchs ist es notwendig neue Technologien zu entwickeln, die dieses lebensnotwendige Gut vor weiteren Belastungen bewahren.

Diese Masterarbeit hatte das Ziel eine Technologie zu entwickeln, um den Ausstoß von Mikroverunreinigungen in Gewässern zu minimieren und die Parameter zu studieren, die es erlauben diesen Prozess zu optimieren. Als Studiensubstanz wurde das Antibiotikum Amoxicillin gewählt, wegen seiner weiten Verbreitung in verschiedenen wässrigen Medien und weil es sich um eines der am meisten verschriebenen Medikamente handelt.

Als Adsorbent wurden verkohlte Mandelschalen gewählt, da es sich um ein in großen Mengen verfügbares Abfallprodukt der portugiesischen Landwirtschaft handelt und es somit nebenbei möglich ist, dessen Marktwert zu erhöhen. Die strukturelle und chemische Beschaffenheit des Materials wurde analysiert und es wurde eine Aussenfläche von $78,5 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ ermittelt. Dieser Wert ist um ein vielfaches geringer als die Fläche von Aktivkohle, wobei bemerkt werden muss daß keine Mikroporen ermittelt wurden. Die Oberflächenladungen wurden mittels *pH-drift* Methodik ermittelt, wobei sich herausstellte, daß diese einen amphoterischen Charakter besitzt. Thermogravimetrische Studien belegten, daß während der Verkohlung flüchtige Stoffe extrem reduziert wurden, zur selben Zeit stieg der Anteil an festem Kohlenstoff auf 75,9%. Die Elementaranalyse bestätigte, daß der Adsorbent hauptsächlich aus Kohlenstoffatomen besteht. Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen zeigten homogene Formen und Durchmesser der Partikel, sowie eine gleichmäßige Verteilung der Poren über der ganzen Oberfläche, wobei es sich hauptsächlich um Makroporen handelt.

Mit diesem Material wurden verschiedene Experimente in einer Festbett-Säule durchgeführt, unter Verwendung verschiedener Festbett-Höhen ($L = 2\text{-}6 \text{ cm}$), Amoxicillin Konzentrationen ($C = 0,25\text{-}10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) und Durchflussraten ($Q = 6\text{-}12 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$).

Um die Amoxicillinkonzentration in den Proben zu ermitteln, wurde eine eigene HPLC-DAD Methode entwickelt, basierend auf einer Wasser-Methanol Mischung als Mobile Phase. Die Nachweis- und Quantifizierungsgrenzen lagen beziehungsweise bei $9 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ und $29 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$.

Es wurde festgestellt, daß eine Erhöhung der Amoxicillin-Konzentration zu einer größeren adsorbierten Menge führt, jedoch verkürzt dies auch die Zeit bis zum *breakthrough*. Größere Festbetthöhen erlauben die Adsorption einer größeren Amoxicillinmenge und benötigen auch eine längere Zeit bis zum *breakthrough*. Eine höhere Durchflussrate verringert die adsorbierte Menge, sowie ermöglicht nur eine geringere *breakthrough* Zeit. Die theoretischen Modelle von Bohart-Adams, BDST, Thomas, Yoon-Nelson, Wolborska und Chu wurden an die experimentellen Daten angewandt. Die zugehörigen Parameter wurden durch nicht-lineare Regression berechnet. Keine der angewandten Modelle konnte zufriedenstellende Vorhersagen erstellen.

Schlüsselwörter:

Adsorption, Festbett, Amoxicillin, Mandelschale, HPLC-DAD.

Índice

1	Introdução	1
1.1	Enquadramento e Apresentação do Projecto	1
1.2	Antibióticos no meio ambiente	2
1.3	Legislação	6
1.4	Mercado e consumo de antibióticos	6
1.5	Adsorção	8
1.5.1	Adsorção em <i>Batch</i>	8
1.5.2	Adsorção em coluna de leito fixo	9
1.6	Materiais adsorventes	10
1.7	Contributos do trabalho	10
2	Estado da Arte	11
2.1	Métodos de remoção de antibióticos em matrizes aquosas	11
2.2	Métodos de detecção e de quantificação da amoxicilina	14
3	Descrição Técnica	16
3.1	Preparação do adsorvente	16
3.1.1	Tratamento da casca de amêndoa	16
3.1.2	Caracterização do adsorvente	17
	Análise por microscopia electrónica de varrimento (SEM)	18
3.2	Adsorção em coluna de leito fixo	19
3.3	Quantificação da amoxicilina por HPLC-DAD	20
3.3.1	Reagentes	20
3.3.2	Equipamento	20
3.3.3	Procedimento experimental	21
3.3.4	Acondicionamento, destino e tratamento de resíduos	21
4	Resultados e Discussão	22
4.1	Caracterização da casca de amêndoa carbonizada	22
4.1.1	Determinação da granulometria, massa específica real e aparente, porosidade e área superficial externa	22

4.1.2	Estudo da dureza do material	23
4.1.3	Determinação de minerais hidrossolúveis	24
4.1.4	Determinação do pH no ponto de carga nula	24
4.1.5	Determinação do espectro de infravermelho associado a transformadas de Fourier (FTIR)	25
4.1.6	Estudo termogravimétrico (TG)	25
4.1.7	Análise Elementar	26
4.1.8	Microscopia electrónica de varrimento (SEM)	26
4.2	Optimização e validação do método analítico	28
4.2.1	Escolha da fase móvel	28
4.2.2	Escolha do comprimento de onda	28
4.2.3	Optimização do tempo de retenção e resposta do equipamento	29
4.2.4	Parâmetros de validação do método analítico	30
4.3	Adsorção em <i>batch</i>	33
4.4	Adsorção em coluna de leito fixo	34
5	Conclusões	47
6	Avaliação do Trabalho Realizado	48
6.1	Objectivos Realizados	48
6.2	Outros Trabalhos Realizados	48
6.3	Limitações e Trabalho Futuro	48
6.4	Apreciação final	48
	Referências	49
Anexo 1	Modelos Teóricos de Adsorção em Leito Fixo	55
1.	Análise matemática dos dados obtidos através de estudos de adsorção em coluna	55
2.	Modelo de Bohart-Adams	56
3.	Modelo de <i>Bed Depth Service Time</i> (BDST)	56
4.	Modelo de Thomas	57
5.	Modelo de Yoon-Nelson	57
6.	Modelo de Wolborska	58
7.	Modelo de Chu	58
8.	Modelo de transferência de massa	60

9.	Avaliação dos parâmetros de <i>design</i> de uma coluna de adsorção.....	61
Anexo 2	Determinação da Recta de Calibração.....	63
Anexo 3	Determinação da Incerteza Global.....	68
1.	Incerteza associada à preparação de padrões, U_1	68
2.	Incerteza associada à recta de calibração, U_2	68
3.	Incerteza associada à precisão, U_3	68
4.	Incerteza associada à exactidão, U_4	69
5.	Incerteza Global, U	69

Lista de Figuras

Figura 1 – Ciclo percorrido pelos antibióticos.

Figura 2 – Quantidade total de antibióticos usados na Europa de 2005.

Figura 3 – Variação sazonal do uso de antibióticos em Portugal entre 2004 e 2007.

Figura 4 – Esquema do procedimento de tratamento da casca de amêndoa.

Figura 5 – Montagem experimental de ensaios de adsorção em leito fixo.

Figura 6 – Distribuição de tamanhos das partículas de casca de amêndoa carbonizada.

Figura 7 – Determinação da carga superficial do adsorvente pelo método da variação do pH.

Figura 8 – Espectro de infravermelho.

Figura 9 – Imagens de microscopia electrónica de varrimento a diferentes ampliações: (a) 100x, (b) 2500x, (c) 10000x, (d) 80000x.

Figura 10 – Estrutura química da amoxicilina e valores de pKa.

Figura 11 – Área do pico (a) e tempo de retenção (b) da amoxicilina para várias composições de fase móvel.

Figura 12 – Recta de calibração e respectiva banda de confiança.

Figura 13 – Peso relativo de cada fonte individual de incerteza (a) e variação da incerteza global com o nível de concentração (b).

Figura 14 – Curvas de breakthrough para diferentes concentrações de amoxicilina na solução de alimentação ($L = 4$ cm e $Q = 12$ mL.min⁻¹).

Figura 15 – Curvas de breakthrough para diferentes alturas de leito de casca de amêndoa carbonizado ($C_0 = 1$ mg.L⁻¹ e $Q = 12$ mL.min⁻¹).

Figura 16 – Curvas de breakthrough para diferentes caudais de solução de alimentação de amoxicilina ($L = 4$ cm e $C_0 = 1$ mg.L⁻¹).

Figura 17 – Curvas de *breakthrough* experimentais (pontos) para a adsorção de amoxicilina em leito fixo com casca de amêndoa carbonizada e curvas teóricas (linhas) usando o modelo Bohart-Adams. (a) Ensaios a diferentes concentrações: $Q = 12$ mL.min⁻¹ e $L = 4$ cm. (b) Ensaios a diferentes caudais: $L = 4$ cm e $C_0 = 1$ mg.L⁻¹. (c) Ensaios a diferentes alturas de leito: $Q = 12$ mL.min⁻¹ e $C_0 = 1$ mg.L⁻¹.

Figura 18 – Curvas de *breakthrough* experimentais (pontos) para a adsorção de amoxicilina em leito fixo de casca de amêndoa carbonizada e curvas teóricas (linhas) usando o modelo de BDST. (a) Ensaios a diferentes concentrações: $Q = 12$ mL.min⁻¹ e $L = 4$ cm. (b) Ensaios a diferentes caudais: $L = 4$ cm e $C_0 = 1$ mg.L⁻¹. (c) Ensaios a diferentes alturas de leito: $Q = 12$ mL.min⁻¹ e $C_0 = 1$ mg.L⁻¹.

Figura 19 – Curvas de *breakthrough* experimentais (pontos) para a adsorção de amoxicilina em leito fixo de casca de amêndoa carbonizada e curvas teóricas (linhas) usando o modelo de Thomas. (a) Ensaios a diferentes concentrações: $Q = 12$ mL.min⁻¹ e $L = 4$ cm. (b) Ensaios a diferentes caudais: $L = 4$ cm e $C_0 = 1$ mg.L⁻¹. (c) Ensaios a diferentes alturas de leito: $Q = 12$ mL.min⁻¹ e $C_0 = 1$ mg.L⁻¹.

Figura 20 – Curvas de *breakthrough* experimentais (pontos) para a adsorção de amoxicilina em leito fixo de casca de amêndoa carbonizada e curvas teóricas (linhas) usando o modelo de Yoon-Nelson. (a) Ensaios a diferentes concentrações: $Q = 12$ mL.min⁻¹ e $L = 4$ cm. (b) Ensaios a diferentes caudais: $L = 4$ cm e $C_0 = 1$ mg.L⁻¹. (c) Ensaios a diferentes alturas de leito: $Q = 12$ mL.min⁻¹ e $C_0 = 1$ mg.L⁻¹.

Figura 21 – Curvas de *breakthrough* experimentais (pontos) para a adsorção de amoxicilina em leito fixo de casca de amêndoa carbonizada e curvas teóricas (linhas) usando o modelo de Wolborska. (a) Ensaios a diferentes concentrações: $Q = 12$ mL.min⁻¹ e $L = 4$ cm. (b) Ensaios a diferentes caudais: $L = 4$ cm e $C_0 = 1$ mg.L⁻¹. (c) Ensaios a diferentes alturas de leito: $Q = 12$ mL.min⁻¹ e $C_0 = 1$ mg.L⁻¹.

Figura 22 – Curvas de *breakthrough* experimentais (pontos) para a adsorção de amoxicilina em leito fixo de casca de amêndoa carbonizada e curvas teóricas (linhas) usando o modelo de Chu (eq.18). (a) Ensaios a diferentes concentrações: $Q = 12$ mL.min⁻¹ e $L = 4$ cm. (b) Ensaios a diferentes caudais: $L = 4$ cm e $C_0 = 1$ mg.L⁻¹. (c) Ensaios a diferentes alturas de leito: $Q = 12$ mL.min⁻¹ e $C_0 = 1$ mg.L⁻¹.

Figura 23 – Deslocação de ZTM ao longo de uma coluna de adsorção e representação de uma curva de ruptura para leito fixo.

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Resumo de algumas publicações sobre antibióticos em diversas matrizes.

Tabela 2 – Principais modelos de cinética e de isotérmicas (adaptado de [31]).

Tabela 3 – Alguns processos de remoção de amoxicilina em matrizes aquosas.

Tabela 4 – Alguns métodos de quantificação de amoxicilina em diversas matrizes aquosas.

Tabela 5 – Propriedades da casca de amêndoa carbonizada.

Tabela 6 – Dureza e condutividade de carvões.

Tabela 7 – Análise imediata do material adsorvente utilizado e da casca de amêndoa ao natural, indicando as frações mássicas em base seca.

Tabela 8 – Análise elementar do material adsorvente em percentagem mássica (base seca e sem cinzas).

Tabela 9 – Condições analíticas para o método desenvolvido.

Tabela 10 – Parâmetros referentes a linearidade da recta de calibração.

Tabela 11 – Resultados de repetibilidade e precisão intermédia.

Tabela 12 – Resultados de exactidão.

Tabela 13 – Valores obtidos para as incertezas associadas a cada uma das fontes e para o coeficiente global.

Tabela 14 – Resumo dos resultados obtidos através de experiências em batch de adsorção de amoxicilina em casca de amêndoa carbonizada ($T=20\text{ }^{\circ}\text{C}$, $C_0=400\text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$, $d_p=600\text{ }\mu\text{m}$) [31].

Tabela 15 – Adsorção da amoxicilina em casca de amêndoa carbonizada a diferentes concentrações de alimentação ($L = 4\text{ cm}$ e $Q = 12\text{ mL.min}^{-1}$).

Tabela 16 – Adsorção da amoxicilina em casca de amêndoa carbonizada a diferentes alturas de leito de adsorvente ($C_0= 1\text{ mg.L}^{-1}$ e $Q = 12\text{ mL.min}^{-1}$).

Tabela 17 – Adsorção da amoxicilina em casca de amêndoa carbonizada a diferentes caudais de alimentação ($L = 4\text{ cm}$ e $C_0= 1\text{ mg.L}^{-1}$).

Tabela 18 – Parâmetros determinados do modelo Bohart-Adams.

Tabela 19 – Parâmetros determinados do modelo BDST.

Tabela 20 – Parâmetros determinados pelo modelo de Thomas.

Tabela 21 – Parâmetros determinados pelo modelo de Yoon-Nelson.

Tabela 22 – Parâmetros determinados pelo modelo de Wolborska.

Tabela 23 – Parâmetros determinados pelos modelos de Chu

Tabela 24 – Características da variância para as curvas de *breakthrough* (adaptado de [34]).

Tabela 25 – Resultados obtidos das análises dos padrões de amoxicilina para obtenção da recta de calibração

Tabela 26 – Parâmetros necessários ao estudo da linearidade da resposta do HPLC à amoxicilina.

Tabela 27 – Resultados do estudo da linearidade da resposta do HPLC à Amoxicilina

Tabela 28 – Intervalos de confiança da recta de calibração para um grau de confiança de 95%.

Tabela 29 – Parâmetros referentes a linearidade da recta de calibração.

Tabela 30 – Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) para a recta de calibração.

Notação e Glossário

a	declive da recta de calibração	mUA.μg ⁻¹ .L
b	ordenada na origem da recta de calibração	mUA
BV	número de volumes de leito	
C	concentração do soluto em solução	mg.L ⁻¹
C_0	concentração de alimentação	mg.L ⁻¹
C/C_0	concentração relativa de soluto	
CV	coeficiente de variação	
D_L	coeficiente de dispersão axial	m ² .s ⁻¹
d_p	diâmetro da partícula	μm
E^0	potencial de oxidação	V
$EBRT$	tempo necessário para o efluente preencher a coluna vazia	
F	afração de adsorvente presente na ZTM que ainda é capaz de remover analito	
h_z	altura da zona de transferência	cm
$IC(a)$	intervalo de confiança do declive	mUA.μg ⁻¹ .L
$IC(b)$	intervalo de confiança da ordenada na origem	mUA
k	constante cinética	(mg.min) ⁻¹
k	constante de (modelo de Bohart-Adams e modelo de BDST)	L.(mg.h) ⁻¹
K_L	constante de equilíbrio de Langmuir	L.mg ⁻¹
k_{Th}	constante cinética de adsorção de Thomas	L.(mg.h) ⁻¹
k_{YN}	constante cinética de adsorção de Yoon-Nelson	h ⁻¹
L	altura do leito	m
m_{ads}	massa de adsorvente	g
m_i	valor medido pelo equipamento	
m_{total}	massa de soluto existente na solução de alimentação à coluna	g
n	número de pontos experimentais	
N_0	capacidade de adsorção do adsorvente	mg.L ⁻¹
q	concentração do soluto na fase móvel	mg.L ⁻¹
Q	caudal	mL.min ⁻¹
q_0	concentração máxima de soluto no adsorvente (modelo de Thomas)	mg.g ⁻¹
q_e	quantidade máxima de soluto que pode ser adsorvida pelo adsorvente	mg.g ⁻¹
q_s	capacidade de saturação do material adsorvente	mg.g ⁻¹
q_t	quantidade de soluto adsorvida no instante t	mg
q_{tot}	quantidade total de soluto adsorvido	mg
r	coeficiente de correlação	
$s(\eta)$	desvio-padrão relativo da percentagem média de recuperação	
S/N	razão sinal ruído	
s_a	desvio padrão do declive da recta de calibração	mUA.μg ⁻¹ .L

s_b	desvio padrão da ordenada na origem da recta de calibração	mUA
s_{x0}	desvio padrão da concentração	mg.L ⁻¹
$s_{y/x}$	desvio padrão residual	
t	tempo de contacto ou tempo de serviço	min
T	temperatura	°C
$t_{0,5}$	tempo para o qual $C/C_0 = 0,5$	h
t_b	tempo de <i>breakthrough</i>	min
t_e	tempo de exaustão	min
t_E	tempo necessário para a ZTM se formar e abandonar o leito de adsorção	min
t_f	tempo necessário para a zona de adsorção se formar	min
t_z	tempo necessário para a zona de transferência se mover o seu próprio comprimento	min
U	incerteza	
u	velocidade superficial	m.s ⁻¹
U_z	velocidade à qual a ZTM se move ao longo do leito de adsorção	cm.min ⁻¹
V_b	volume de efluente tratado até <i>breakthrough</i>	mL
V_{ef}	volume de efluente tratado	L
x	concentração de amoxicilina na solução padrão	ppb
y_i	área do pico	muA
Z	coordenada axial com origem no topo do leito	cm

Letras gregas

β	coeficiente cinético de transferência de massa externa (modelo de Wolborska)	h ⁻¹
ΔG	energia livre de Gibbs	kJ.mol ⁻¹
ΔH	variação de entalpia	kJ.mol ⁻¹
Δm_i	erro associado a um equipamento de medida	
ΔS	variação de entropia	kJ.mol ⁻¹
ε	porosidade	
σ	desvio padrão	
v	velocidade intersticial	m.s ⁻¹

Índices

i	índice ou contador
-----	--------------------

Lista de Sigla

BDST	<i>Bed Service Time</i>
CEE	Comunidade Económica Europeia
COD	<i>Chemical Oxygen Demand</i> - Carência Química em Oxigénio
CZE	<i>Capillary Zone Electrophoresis</i> – Electroforese de Zona Capilar
DAD	<i>Diode Array Detector</i>
EBRT	<i>Empty Bed Residence Time</i> – Tempo necessário para preencher o leito
EDS	<i>Energy Dispersive X-Ray</i> – Energia dispersiva de raio-X
ESAC	<i>European Surveillance of Antimicrobial Consumption</i>
ESI	<i>Electrospray Ionization</i>
ETA	Estação de Tratamento de Água
ETAR	Estação de Tratamento de Águas Residuais
FL	<i>Fluorescence</i> – Fluorescência
FTIR	<i>Fourier Transform Infrared Spectroscopy</i> – Espectroscopia de Infravermelhos associada a transformadas de Fourier
GAC	<i>Granular Activated Carbon</i> – Carvão activado granulado
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i>
LC	<i>Liquid Chromatography</i> – Cromatografia Líquida
LD	Limite de detecção
LEPAE	Laboratório de Engenharia de Processos Energia e Ambiente
LIF	<i>Laser Induced Fluorescence</i> – Fluorescência induzida por Laser
LLE	<i>Liquid-Liquid Extraction</i> – Extracções líquido-líquido
LMR	Limite Máximo de Resíduos
LQ	Limite de quantificação
MEKC	<i>Micellar Electrokinetic Chromatography</i> - Cromatografia Electrocinética Micelar
MS	<i>Mass Detector</i>
SEM	<i>Scanning Electron Microscopy</i> – Microscopia electrónica de varrimento
SPE	<i>Solid Phase Extraction</i> – Extracção em fase sólida
TG	<i>Thermogravimetry</i> – Termogravimetria
TOC	<i>Total Organic Carbon</i> - Carbono Orgânico Total
UV	Ultravioleta
UV-VIS	Ultravioleta-visível
XPS	<i>Photoelectron Microscopy</i>
ZTM	Zona de transferência de massa

1 Introdução

1.1 Enquadramento e Apresentação do Projecto

A água é um bem essencial para a vida humana e para todos os seres vivos neste planeta. Cerca de 71% ($1,4 \times 10^9 \text{ km}^2$) [1] do nosso planeta está coberto por água, no entanto apenas 2,5% dessa água é água doce e desta, apenas 0,75% está disponível para consumo humano [2].

Ao mesmo tempo, a população humana está a crescer a uma taxa anual de aproximadamente 80 milhões de pessoas, implicando um consumo adicional de $1 \times 10^9 \text{ m}^3$ de água. Um estudo da Unesco estima que até 2025 cerca de $2,7 \times 10^9$ dessas pessoas viverão em regiões onde o acesso à água potável de qualidade não estará assegurado. Com o aumento da escassez da água, aumentará o preço dos alimentos e consequentemente o risco de conflitos bélicos pelo domínio deste recurso [3]. Neste preocupante cenário é de extrema importância proteger e recuperar os recursos hídricos, de modo a evitar a ruptura do frágil equilíbrio natural da água e dos ecossistemas dependentes. O quadro de acção comunitário no domínio da política da água da União Europeia (2000/60/CE) [4] realça que a água não é um produto comercial como outro qualquer, mas um património que deve ser defendido e protegido. Deste modo, deve ser promovida uma utilização sustentável deste recurso valioso.

Desde os anos 50 têm surgido relatos da presença de fármacos no meio ambiente e a partir dos anos 90, graças à evolução da tecnologia, tem havido um aumento significativo de publicações sobre este assunto. Hoje é inegável que, em praticamente todos meios aquosos, existem composto farmacêuticos, tornando-se necessário adoptar medidas para resolver este problema.

Os antibióticos têm sido detectados em quantidades de ng.L^{-1} e $\mu\text{g.L}^{-1}$ em várias matrizes aquosas e têm surgido preocupações sobre os efeitos que a ingestão prolongada dessas pequenas quantidades possam ter no ser humano. A principal preocupação reside no facto de que a exposição a estes princípios activos possa levar à formação de resistências de agentes infecciosos, tornando os actuais tratamentos ineficazes. Assim o problema acaba por torna-se não só um problema ambiental, como também de saúde pública.

1.2 Antibióticos no meio ambiente

Embora na década de 50 já existissem alguns estudos sobre a presença de produtos farmacêuticos no meio ambiente [5], apenas nos últimos anos, com a evolução de equipamentos e de procedimentos analíticos, houve um aumento significativo das publicações nesta área. Provavelmente um dos primeiros artigos que comprovam a existência de antibióticos no meio ambiente data de 1995 e relata a existência da lixiviação de sulfonamidas de um aterro sanitário para os lençóis freáticos [6].

Uma parte significativa dos antibióticos introduzidos no meio ambiente provém da excreção (p. ex., cerca de 90% da amoxicilina é excretada sem ser metabolizada [8]) e de efluentes resultantes dos processos de produção destes compostos. A excreção animal constitui uma das principais fontes de contaminação, uma vez que o estrume é utilizado na fertilização de solos. Quando disperso no solo, os compostos não metabolizados e/ou os seus metabólitos de degradação são lixiviados, contaminando os lençóis freáticos, solos e afectando indirectamente os ecossistemas terrestres e aquáticos [7]. Os antibióticos administrados pelos humanos são introduzidos no ambiente através da excreção pela urina e fezes, embora uma pequena parte, como é o caso dos produtos de aplicação tópica (cremes, unguentos e pensos de libertação controlada), seja eliminada através da higiene pessoal. Em qualquer um dos casos, estes compostos entram no sistema de esgotos e são encaminhados para estações de tratamento de águas residuais (ETAR's). Nas ETAR's formam-se lamas que também são aplicadas como fertilizantes de solos.

Muitas vezes os antibióticos, devido à sua complexidade ou propriedades químicas, não são eliminados através dos processos convencionais de tratamento de águas residuais [9], contaminando águas superficiais e consequentemente, águas marinhas. Eventualmente, uma das principais propriedades dos antibióticos – a hidrossolubilidade - torna-os ainda mais difíceis de remover do meio aquático, facilitando a sua distribuição ao longo de todo o ciclo da água. Para além das fontes de contaminação mencionadas anteriormente, pode ocorrer o despejo indevido de medicamentos não usados através do sistema de esgotos e a sua deposição em aterros sanitários [10] e consequente lixiviação [6]. Também são de referir as actividades agropecuárias e de aquacultura como importantes fontes de antibióticos no meio ambiente. A par da directa introdução de antibióticos e de outros fármacos na cadeia alimentar através do tratamento de animais e plantas, existe uma fonte de contaminação indirecta: o uso de águas superficiais ou profundas contaminadas para rega e deposição de estrume, e lamas nos solos para fertilização de áreas agrícolas. Uma vez que todos os ciclos produtivos de alimentos dependem da água, não é possível excluir esta possibilidade de contaminação.

Na Figura 1 encontra-se um esquema sobre as origens e principais vias de contaminação com antibióticos.

A permanência dos antibióticos no meio depende nomeadamente das suas propriedades físico-químicas, das condições climáticas e do tipo de meio [11]. A bioacumulação e a persistência destas substâncias no ambiente podem induzir efeitos tóxicos nos ecossistemas, mesmo em baixas concentrações ($\mu\text{g-ng.L}^{-1}$). De entre os vários fármacos, os antibióticos são os que suscitam maior preocupação, uma vez

que produzem resistências nas linhagens microbiológicas, podendo causar graves problemas de saúde pública e desequilíbrios nos ecossistemas microbianos [12].

Os antibióticos têm sido detectados nas matrizes ambientais anteriormente referidas, encontrando-se na Tabela 1 um resumo das matrizes aonde foram encontrados.

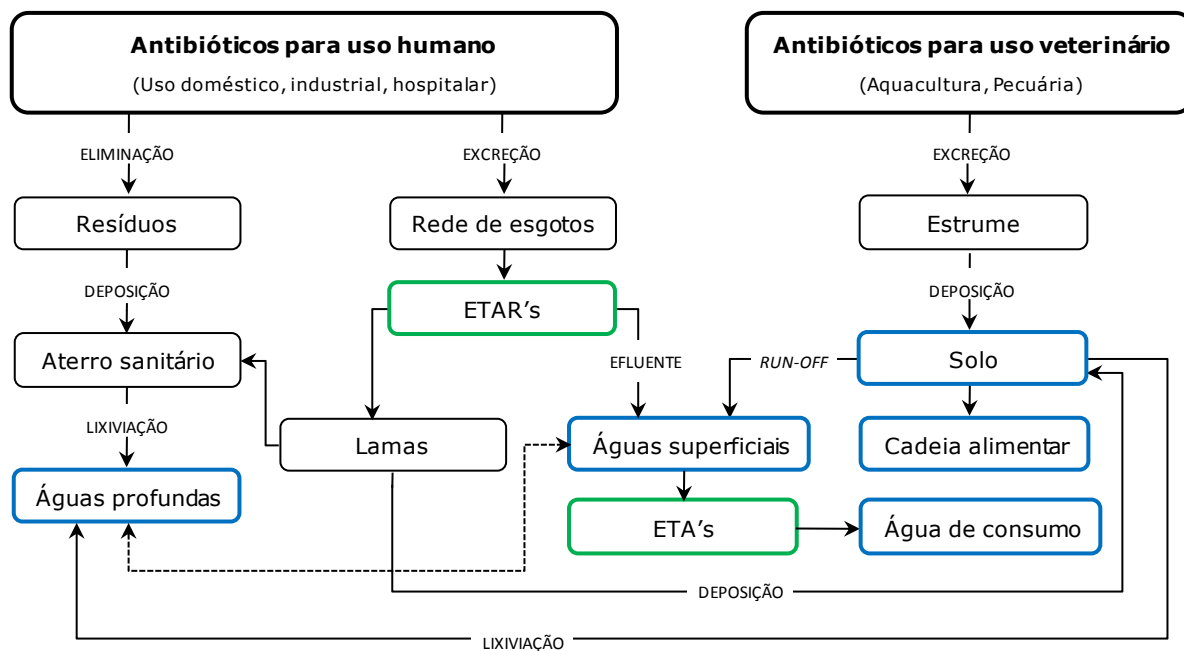


Figura 1 – Ciclo percorrido pelos antibióticos.

Tabela 1 – Resumo de algumas publicações sobre antibióticos em diversas matrizes.

Matriz	Meio	Antibiótico	Local	Concentração ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	Ref.
Águas residuais	Efluente entrada ETAR	Amoxicilina	South-East Queensland, Austrália	6,94	[13]
		Ciprofloxacina	Coimbra, Portugal	0,67	[14]
		Ciprofloxacina	Áustria	0,34	[15]
		Ofloxacina	Áustria	0,24	[15]
	Efluente ETAR	Amoxicilina	Wan Chai West, REA Hong Kong	1,67	[16]
		Amoxicilina	South-East Queensland, Austrália	0,05	[15]
	Efluente saída ETAR	Claritromicina	Zurique, Suíça	0,30	[17]
		Eritromicina	Zurique, Suíça	0,20	[17]
	Efluente hospitalar	Amoxicilina	South-East Queensland, Austrália	0,90	[15]
		Ciprofloxacina	Coimbra, Portugal	11,0	[14]
		Lincomicina	Albuquerque, New Mexico, USA	2,00	[18]
		Norfloxacina	Coimbra, Portugal	0,23	[14]
		Ofloxacina	Coimbra, Portugal	10,7	[14]
		Ofloxacina	Albuquerque, New Mexico, USA	35,5	[18]
		Penicilina G	Albuquerque, New Mexico, USA	5,20	[18]
		Trimetoprim	Albuquerque, New Mexico, USA	5,00	[18]
	Efluente Lar 3ª Idade	Ofloxacina	Albuquerque, New Mexico, USA	23,5	[18]
Água superficial	Água de rio	Amoxicilina	South-East Queensland, Austrália	0,20	[15]
		Ciprofloxacina	Áustria	0,028	[15]
		Eritromicina	Rio das Pérolas, Guangzhou, China	0,60	[9]
		Eritromicina	Rio Llobregat, Espanha	2,40	[19]
		Eritromicina	Rio Schelde, Países Baixos	3,20	[19]
		Eritromicina	Rio Elbe, Alemanha	0,10	[19]
		Ofloxacina	Áustria	0,028	[15]
		Sulfadiazina	Rio das Pérolas, Guangzhou, China	0,30	[9]
		Sulfametoxazol	Rio Llobregat, Espanha	4,70	[19]
		Sulfametoxazol	Rio Schelde, Países Baixos	6,30	[19]
		Sulfametoxazol	Rio Elbe, Alemanha	0,30	[19]
		Sulfametoxazol	Rio Grande, New Mexico, USA	0,30	[18]

Tabela 1 – Resumo de algumas publicações sobre antibióticos em diversas matrizes (continuação).

Matriz	Meio	Antibiótico	Local	Concentração ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	Ref.
Água de consumo	Água de torneira	Ciprofloxacina	Carolina do Norte, USA	0,018	[20]
		Doxiciclina	Carolina do Norte, USA	0,005	[20]
		Lincomicina	Carolina do Norte, USA	0,008	[20]
Água marinha	Água marinha	Amoxicilina	Wan Chai West, Hong Kong	0,076	[16]
		Cefalexina	Shau Kei Wan, Hong Kong	0,016	[16]
		Norfloxacina	Victoria Harbour, Hong Kong	0,028	[9]
		Ofloxacina	Victoria Harbour, Hong Kong	0,016	[9]
		Roxitromicina	Victoria Harbour, Hong Kong	0,031	[9]
Sedimentos	Sedimento de rio	Meclociclina	Poudre River, Colorado, USA	167,5	[21]
		Ofloxacina	Áustria	0,58	[15]
		Oxitetraciclina	Poudre River, Colorado, USA	56,1	[21]
		Tetraciclina	Poudre River, Colorado, USA	102,7	[21]
Alimentos	Leite (de vaca)	Ciprofloxacina	Coreia do Sul	16,7	[22]
		Penicilina G	Suíça	>30,0	[23]
		Penicilina G	Baden Württemberg, Alemanha	536	[24]
		Sulfamerazina	Coreia do Sul	12,2	[22]
	Rim bovino	Amoxicilina	Baden Württemberg, Alemanha	34,0	[24]
	Carne (cordeiro)	Amoxicilina	Baden Württemberg, Alemanha	60,0	[24]
	Carne bovina	Amoxicilina	Baden Württemberg, Alemanha	38,0	[24]
	Trigo (grão)	Clorotetraciclina	Alemanha	43,0	[25]

1.3 Legislação

A presença de antibióticos no ambiente tem sido comprovada em diversos estudos (Tabela 1), porém ainda não existe consenso quanto aos efeitos e consequências da sua presença. Neste contexto de incerteza, não tem sido possível definir critérios rigorosos e definitivos, de modo a criar legislação adequada à situação.

O regulamento (CEE) n.º 2377/90 [26], alterado e actualizado pelo regulamento (CE) n.º 542/2008 [27], estabelece limites máximos para resíduos de medicamentos (LMR) em alimentos de origem animal. Assim através do anexo I deste regulamento, estabeleceu-se para a amoxicilina um LMR 50 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ para tecidos comestíveis (músculo, tecido adiposo, fígado e rim) e 4 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para o leite.

A directiva 2000/60/CE [4] estabelece um quadro de acção comunitário no domínio da política da água e tem como objectivo a conservação e o melhoramento do ambiente aquático, bem como da protecção dos ecossistemas. Esta directiva comunitária estabelece metas para a qualidade das águas de todos os estados membros, que deverão ser cumpridas até 2015. O Artigo 127b da directiva 2004/27/CE [27] impõe aos Estados Membros a criação de sistemas adequados de recolha de medicamentos não utilizados cujo prazo de validade tenha expirado. Em Portugal cabe aos titulares de autorização de introdução no mercado a recolha e eliminação dos medicamentos, conforme definido pelo Decreto-Lei n.º 176/2006 [29], sendo o *Infarmed* responsável pela definição dos princípios gerais desses sistemas de recolha.

A directiva 98/83/CE [30] visa proteger a saúde humana dos efeitos nocivos resultantes da contaminação de água destinada a consumo humano. Estabelece 50 parâmetros, entre os quais limites máximos para pesticidas e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, mas não refere produtos farmacêuticos. Existe no entanto a possibilidade de cada Estado Membro definir parâmetros adicionais (válidos apenas em território nacional) se assim o entenderem.

Espera-se que com o crescente conhecimento sobre existência, consequências e processos de eliminação de produtos farmacêuticos (e antibióticos em particular) seja possível impor limites legais a estes compostos.

1.4 Mercado e consumo de antibióticos

Antibióticos são por definição compostos que em pequenas quantidades são capazes de matar ou inibir o crescimento de bactérias e outros microrganismos.

A *European Surveillance of Antimicrobial Consumption* (ESAC) é uma rede internacional de sistemas de vigilância, que recolheu dados sobre usos de antibióticos na Europa. Esses dados serviram de base para programas de prevenção de resistências bacteriológicas. De seguida apresentam-se os antibióticos mais utilizados em 25 países europeus no ano de 2005 [31].

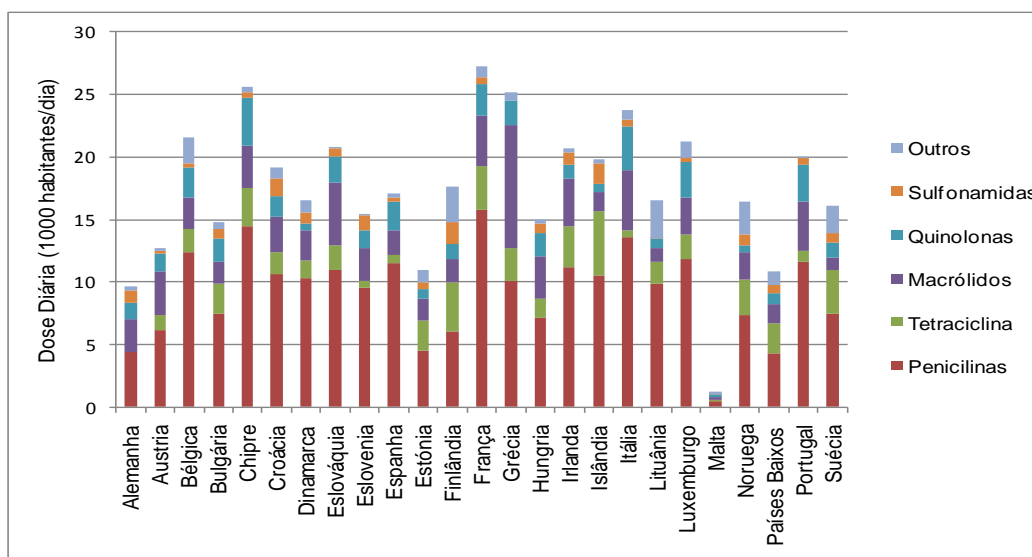


Figura 2 – Quantidade total de antibióticos usados na Europa de 2005 (adaptado de [31]).

Observando o gráfico anterior verifica-se que as penicilinas são o grupo de antibióticos mais consumido na Europa. Em comparação com alguns países, Portugal apresenta um consumo elevado de antibióticos, sendo as penicilinas os antibióticos mais utilizados.

O consumo de antibióticos varia ao longo do ano, devido às mudanças das condições climáticas. Assim, de acordo com a Figura 3, verifica-se em Portugal um maior consumo de antibióticos nos meses de Inverno.

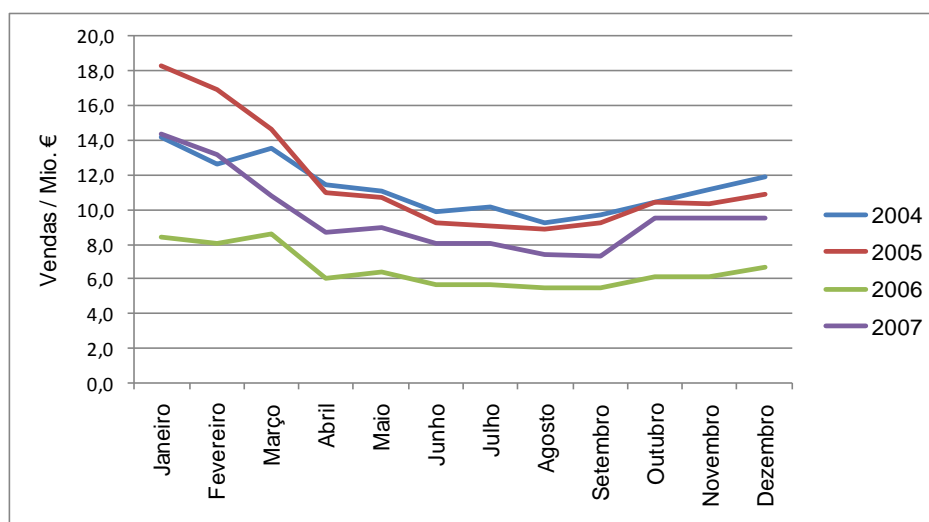


Figura 3 – Variação sazonal do uso de antibióticos em Portugal entre 2004 e 2007 [32-35].

A amoxicilina é um antibiótico de espectro moderado pertencente ao grupo das β -lactamas. Geralmente a amoxicilina é o composto de eleição no combate a infecções causadas por microrganismos sensíveis a β -lactamas por possuir uma boa absorção em relação a outros antibióticos da mesma classe e por ser bem tolerado. Actua interferindo na síntese da parede das bactérias. Alguns organismos produzem

enzimas que destroem a amoxicilina, pelo que é dado em combinação ácido clavulânico que inibe a acção dessas enzimas [36].

Em Portugal, a amoxicilina (em combinação este ácido) é dos antibióticos mais prescritos, ocupando a 4ª posição das substâncias activas mais prescritas em 2007 e é responsável pelo 10º maior encargo em custos com medicamentos no Sistema Nacional de Saúde [35].

1.5 Adsorção

O processo de adsorção é muitas vezes utilizado para remover contaminantes de efluentes líquidos. De seguida apresentam-se os principais fundamentos do processo de adsorção.

1.5.1 Adsorção em *Batch*

Os sistemas de adsorção podem funcionar de uma forma descontínua (ensaios em *batch*) ou de forma contínua (ensaios em leito fixo). A adsorção em *batch* é muitas vezes utilizada para remover solutos de efluentes líquidos, quando as quantidades a tratar são pequenas [37].

Os estudos de adsorção em *batch* permitem determinar a quantidade de adsorvente necessária à obtenção do tempo de equilíbrio [38], a capacidade teórica de adsorção do material adsorvente (isotérmica - relação entre a concentração de soluto adsorvido e a concentração do soluto na fase líquida, a temperatura constante [39]) e efectuar estudos de cinética. Na Tabela 2, encontram-se alguns modelos de cinética e de isotérmicas de equilíbrio mais aplicados na literatura.

Tabela 2 – Principais modelos de cinética e de isotérmicas (adaptado de [40]).

Modelos Cinéticos		Isotérmicas de equilíbrio	
<i>Pseudo-primeira ordem</i> $q_t = q_e(1 - e^{-k_1 t})$	O modelo assume que a adsorção é um processo químico e segue uma cinética de primeira ordem.	<i>Linear</i> $q_e = K_d C_e$	A acumulação do soluto no adsorvente é directamente proporcional à concentração de equilíbrio na solução.
<i>Pseudo-segunda ordem</i> $q_t = \frac{q_e^2 k_2 t}{1 + q_e k_2 t}$	O modelo assume que a adsorção é um processo químico e segue uma cinética de segunda ordem.	<i>Langmuir</i> $q_e = \frac{q_{máx} K_L C_e}{1 + K_L C_e}$	Assume: - formação de monocamada à superfície do adsorvente; - energia de adsorção de cada molécula é independente do grau de cobertura da superfície; - adsorção ocorre em “sítios” específicos do adsorvente; - cada “sítio” é ocupado apenas por uma molécula de analito.
<i>Difusão intraparticular</i> $q_t = k_{id} t^{1/2} + \text{constante}$	Este modelo pressupõe que o passo controlante é a difusão intraparticular.	<i>Freundlich</i> $q_e = K_f C_e^{1/n}$	Modelo empírico. Descreve bem sistemas de adsorção que ocorrem em materiais heterogéneos.
<i>Difusão externa</i> $C_t = C_0 e^{-k_{ex} t}$	Este modelo pressupõe que o passo controlante é a difusão no filme externo, à volta das partículas de adsorvente.		

1.5.2 Adsorção em coluna de leito fixo

Os ensaios de coluna são fundamentais à modelização de sistemas contínuos, particularmente ao seu dimensionamento e à avaliação do seu tempo de funcionamento. Estas informações podem ser obtidas através de curvas de rupturas, também designadas por curvas de *breakthrough*.

Os processos contínuos não operam em estado estacionário, uma vez que os perfis de concentração na fase líquida e sólida variam com o espaço e tempo [41]. Portanto, a transferência do soluto da fase líquida para a sólida poderá ser definida pela equação de balanço material em estado não estacionário [42]:

$$-D_L \left(\frac{\partial^2 C}{\partial z^2} \right)_t + v \left(\frac{\partial C}{\partial z} \right)_t + \left(\frac{\partial C}{\partial t} \right)_z + \frac{(1-\varepsilon)}{\varepsilon} \left(\frac{\partial q}{\partial t} \right)_z = 0 \quad (1)$$

aonde D_L representa o coeficiente de dispersão axial, C a concentração do soluto em solução, q a concentração do soluto na fase móvel, z a coordenada axial com origem no topo do leito, ε a porosidade do leito, v a velocidade intersticial e t representa o tempo.

O primeiro termo desta equação representa a dispersão axial, o segundo a convecção, o terceiro e quarto termo correspondem à concentração do analito na fase líquida e sólida, respectivamente. As condições inicial e fronteira associadas à equação (1) são dadas por [43]:

$$\begin{aligned} t = 0 \quad C = q &= 0 \\ z = 0 \quad \frac{D_L}{v} \frac{\partial C}{\partial z} &= C - C_0 \\ z = L \quad \frac{\partial C}{\partial z} &= 0 \end{aligned}$$

aonde C_0 é a concentração de analito no efluente à entrada da coluna e L a altura do leito.

Embora as expressões anteriores sejam úteis para a compreensão da dinâmica das colunas de leito fixo, a sua utilidade prática está restringida à resolução complexa deste sistema de equações através de métodos numéricos. Para colmatar esta dificuldade surgiram diferentes modelos matemáticos baseados na equação de balanço material, mas de fácil resolução. Alguns destes modelos serão abordados ao longo deste trabalho.

O modelo de Bohart-Adams surgiu em 1920 para descrever as curvas de *breakthrough* de um sistema gás-carvão, no entanto tem sido aplicada com sucesso em outros sistemas. Este modelo é baseado na teoria da reacção à superfície, assumindo que o equilíbrio não é instantâneo [44]. Hutchins propôs uma modificação a este modelo de Bohart-Adams – o modelo de BDST (*Bed Service Time*). Este modelo descreve uma relação entre o tempo de serviço e a massa de adsorvente, expressa através da altura do leito [45, 46] e assume que a difusão intra-particular e a resistência externa à transferência de massas são desprezáveis e que a cinética de adsorção é controlada pela reacção química à superfície entre soluto e solução [47]. O modelo de Thomas é um dos mais utilizados no estudo do desempenho de colunas de

leito fixo. Este modelo assume cinética de adsorção-dessorção de Langmuir, sem dispersão axial e que a força motriz obedece a uma cinética de reacção de segunda ordem reversível [47- 49]. Já Yoon e Nelson desenvolveram um modelo menos complicado do que os descritos anteriormente [47]. Este modelo tem a vantagem de não necessitar de informações sobre as características do adsorbato e do adsorvente, bem como das propriedades físicas do leito de adsorção [41]. O modelo de Yoon-Nelson assume que a probabilidade de adsorção de uma molécula de adsorbato é inversamente proporcional à cobertura da superfície e à probabilidade de *breakthrough* do leito. Wolborska desenvolveu um modelo que é aplicado na definição da dinâmica do processo de adsorção na gama das baixas concentrações da curva de *breakthrough*, utilizando equações de transferência de massa para descrever os mecanismos de difusão. Um outro modelo bastante utilizado foi desenvolvido por Belter e Cussler, sendo mais tarde modificado por Chu. Este modelo é bastante simples, contendo apenas dois parâmetros.

Uma abordagem da teoria destes modelos é efectuada no Anexo 1.

1.6 Materiais adsorventes

O carvão activado comercial é um dos adsorvente mais utilizados, mas o seu elevado custo (não só o seu preço de mercado, mas também o custo relativo ao processo de regeneração) suscita a procura de materiais alternativos. Por esta razão, nos últimos anos tem-se vindo a estudar novos materiais para a remoção de compostos orgânicos. Alguns subprodutos agrícolas, devido ao seu baixo custo, têm vindo a ser utilizados nesta temática. Como exemplos, tem-se a casca de noz, amêndoa e avelã, bagaço de cana-de-açúcar, casca de pinheiro, bambu, caroços de pêssgo e cascas de arroz [40]. Alguns destes materiais são utilizados sem nenhum tratamento prévio, mas outros são empregues na produção de novos carvões.

Neste trabalho utilizou-se a casca de amêndoa como adsorvente, uma vez que este material constitui um dos maiores subprodutos agrícolas em Portugal. Nos últimos anos, a produção nacional de amêndoa atingiu as 30 000 toneladas, das quais 90% são produzidas na região Norte do país [40]. É importante salientar que cada amêndoa tem em média 50% de casca em massa, produzindo-se assim grandes quantidades anuais destes resíduos.

1.7 Contributos do trabalho

Com a inegável presença de antibióticos no meio ambiente e na incerteza quanto aos seus efeitos a longo prazo, torna-se necessário tomar medidas de modo a evitar uma maior proliferação deste problema. Este projecto de desenvolvimento pretende apontar a adsorção em resíduos agrícolas como uma possível solução. Aliando aos benefícios ambientais, pretende-se através da utilização da casca de amêndoa dar uma nova utilidade a este resíduo, criando uma mais-valia para um produto residual.

2 Estado da Arte

2.1 Métodos de remoção de antibióticos em matrizes aquosas

Têm sido desenvolvidos vários processos de remoção/ degradação com vista a oferecer uma solução para a problemática dos antibióticos no meio ambiente. No entanto, essa tarefa é dificultada por várias condicionantes. Em primeiro lugar, os antibióticos possuem estruturas e propriedades muito variadas, pelo que será necessário avaliar se o mesmo processo é capaz de ser eficaz para as diversas classes destes fármacos. O facto dos antibióticos se encontrarem distribuídos por praticamente todos os meios, agrava esta situação, uma vez que as matrizes nas quais se encontram, possuem características também muito distintas. Deste modo, não haverá uma solução única para a remoção de todos os tipos de antibióticos a partir de diversos meios, mas sim combinações de diversos métodos, adequando-se aos compostos e meios a tratar.

Os processos existentes podem ser divididos em 3 classes: processos biológicos, químicos e físicos. Adicionalmente existe a combinação destes processos, na tentativa de aliar as vantagens de cada um e superar eventuais limitações.

Os processos biológicos utilizam microrganismos para a eliminação do poluente, servindo este como substrato para o crescimento e manutenção destes seres vivos. Distinguem-se entre processos aeróbios e anaeróbios, dependendo se a oxidação dos compostos orgânicos ocorre na presença ou ausência de oxigénio. Estes processos são amplamente utilizados em ETARs devido à sua capacidade de tratarem grandes efluentes a um custo relativamente baixo. Têm no entanto também a desvantagem de produzirem lamas que podem ainda conter antibióticos ou os seus metabolitos de degradação, provocando uma propagação da contaminação, caso não sejam devidamente acondicionadas [50].

Os processos químicos consistem geralmente em processos oxidativos, através dos quais se tenta degradar o poluente por meio de uma reacção com um oxidante, na forma de radicais livres. O dióxido de cloro (ClO_2) é um oxidante amplamente utilizado na desinfecção de água proveniente de lençóis freáticos ou águas superficiais pré-tratadas. O ClO_2 é um radical livre relativamente estável que reage com outros componentes de matrizes aquosas, nomeadamente micro-poluentes através de uma reacção de transferência de electrões. No entanto, é selectivo para os grupos funcionais específicos de compostos orgânicos: grupos fenólicos e aminas terciárias. Muitos antibióticos contêm estes grupos funcionais, pelo que se espera que o cloro seja capaz de os oxidar. No entanto, a sua presença em águas de torneira (tratadas) [20] indica que este tipo de processo é insuficiente para efectivamente anular a presença destes compostos. Uma alternativa ao dióxido de cloro é dada pela ozonólise, que recorre ao ozono (O_3). Este pode reagir com o poluente por duas vias: directamente, através do ataque aos centros nucleofílicos do poluente ou por via indirecta, formando o radical livre hidroxilo ($\bullet\text{OH}$). Este último tem um potencial de oxidação maior ($E^0=+3.06\text{ V}$), que o ozono molecular ($E^0=+2.07\text{ V}$) e é menos selectivo, pelo que as reacções via indirecta são mais eficientes na degradação de poluentes [51].

Fenton (1894) verificou pela primeira vez a capacidade oxidativa de uma mistura de peróxido de hidrogénio e sais de ferro (Fe^{2+}) em meio ácido. O Fe^{2+} é oxidado a Fe^{3+} , dando origem a radicais livres hidroxilo ($\bullet\text{OH}$) provenientes da reacção com H_2O_2 . Estas reacções decorrem em cadeia e no fim o Fe^{3+} é reduzido novamente a Fe^{2+} , estando disponível para novas reacções. As reacções de Fenton têm sido amplamente utilizadas para a oxidação e consequente degradação de compostos orgânicos, nomeadamente corantes da indústria têxtil. Embora se trate de um processo com grande poder oxidante, é importante salientar que nem todos os compostos orgânicos são oxidados por este tratamento e que pode ocorrer a formação de produtos de degradação igualmente tóxicos. Este processo também possui algumas desvantagens, nomeadamente a necessidade de ser necessária a posterior neutralização do efluente tratado, uma vez que as reacções de Fenton têm que ocorrer em meio ácido. Outra desvantagem existe quando a reacção ocorre em meio homogéneo (ferro está dissolvido no efluente), uma vez que a neutralização provoca a precipitação do ferro e consequente formação de lamas poluentes. Uma abordagem semelhante (mas sem H_2O_2) consiste na utilização de nanopartículas de Fe^0 .

A fotodegradação promove a formação de radicais através de radiação de UV de alta intensidade. A energia da radiação é absorvida pelas ligações químicas do substrato, quebrando-as e consequentemente, degradando-o. Por vezes são utilizados catalisadores como o dióxido de titânio [52] de modo a promoverem esta reacção. Este processo poderá constituir uma técnica vantajosa de remoção, uma vez que a radiação natural seria aproveitada como fonte de ultravioleta, apresentando-se como um processo menos dispendioso.

As resinas de permuta iónica são tradicionalmente utilizadas na purificação de água, nomeadamente na redução do teor de calcário e na dessalinização da água. Sendo a amoxicilina um composto com grupos polares, foi estudada a capacidade de resinas efectuarem a troca destas moléculas por outros compostos menos ofensivos. No entanto, a presença de outros iões compromete a sua eficiência aumentando significativamente o custo aliado a esta tecnologia.

Dos processos físicos são de referir a osmose inversa e a nanofiltração que recorrem a membranas com poros e propriedades adequadas à retenção de um determinado antibiótico, permitindo a passagem da água. Estes processos são mais apropriados para águas que já apresentam um certo nível de pureza, uma vez que têm como desvantagem uma grande susceptibilidade a *fouling*.

A par dos processos referidos existem combinações dos processos, assim o Foto-Fenton visa aumentar a formação de radicais livres através da irradiação da mistura reaccional com raios UV. Na Tabela 3 encontram-se resumidos alguns processos estudados para a remoção da amoxicilina de meios aquosos.

Tabela 3 – Alguns processos de remoção de amoxicilina em matrizes aquosas.

Processo	Matriz	Concentração (mg.L ⁻¹)	Taxa de remoção	Observações	Ref.
Nanofiltração	Padrão em água	0,50	65-99%	Na presença de alginatos a taxa de remoção é superior, no entanto também provoca <i>fouling</i> da membrana.	[53]
Osmose inversa	Efluente de sistema de recuperação de água	10	100 %	O processo encontrava-se em série com um reator biológico. A remoção é parcialmente atribuída à decomposição microbiana. Ao fim de 10 h, a membrana sofreu colmatação.	[54]
Adsorção com quitosano (<i>batch</i>)	Padrão em água	0,20-3	≈70%	Os autores estudaram apenas dois modelos de isotérmicas.	[55]
Adsorção com bentonite e carvão activado (<i>batch</i>)	Efluente de uma empresa de antibióticos	300	88 % 95 %	Os níveis de amoxicilina são francamente elevados (317 mg.L ⁻¹), pelo que as mesmas remoções poderão não ser obtidas para efluentes com concentrações inferiores.	[56]
Permuta iónica	Efluente de sistema de recuperação de água	10	100%	A amoxicilina compete com outros aniões nas reacções de permuta; Processo caro na presença de muitos iões, como é o caso de efluentes	[54]
Degradação UV	Efluente de sistema de recuperação de água	10	100%		[54]
O ₃ /UV	Efluentes	183	>90%	Mesmo para longos períodos de tratamento não ocorre a mineralização da amoxicilina. O ataque do ozono ocorre preferencialmente no anel fenólico e no átomo de enxofre. Os produtos de degradação necessitam de estudo quanto à sua ecotoxicidade.	[57]
Fenton	Padrão em água	104	100% (ao fim de 2 min)	As concentrações de antibióticos são demasiado altas para um efluente normal. A biodegradabilidade foi melhorada de 0 para 0,37 em 10 min.	[58]
Foto Fenton	Padrão em água	500	100%	Ao fim de 1 min é obtida a degradação da amoxicilina. As concentrações de amoxicilina são demasiado altas para permitir conclusões para situações reais e não se trata de um efluente simulado, mas sim de um padrão. Os autores propõem este processo como pré-tratamento de efluentes.	[59]
Foto Fenton	Efluente ETAR	42	89% (1 min, UV) 85% (1 min, solar)	Os autores comparam o processo sob condições laboratoriais e em campo (Brasil). Degradação deve-se parcialmente à hidrólise da amoxicilina e não ao à fonte de radiação.	[60]
Extracção líquido-líquido Fenton Osmose inversa (2 etapas)	Efluente de fabricação de amoxicilina	*	50,6% (TOC) 88,4 % (TOC) 99,7% (TOC)	A amoxicilina foi quantificada através de leituras de TOC do efluente. Foi estudada a combinação de vários processos. A extracção líquido-líquido e a oxidação Fenton permitiram proteger as membranas de osmose inversa. A osmose inversa também permitiu reduzir os níveis de ferro no efluente.	[61]
Nanopartículas de Fe ⁰	Padrão em água	20	100% (3 horas)	A amoxicilina é degradada sofrendo abertura do anel β-lactâmico, adsorção em produtos de corrosão do ferro e precipitação. Foram identificados produtos de degradação.	[62]
O ₃ O ₃ /H ₂ O ₂ Biodegradação	Efluente de fabricação de amoxicilina + efluente doméstico	*	56% COD (O ₃) 76% COD (O ₃ /H ₂ O ₂) 71% COD (p. biológico)	Mesmo a combinação de processos foi incapaz de degradar completamente o efluente. Na combinação O ₃ + processo biológico a degradação máxima foi 84%, enquanto para O ₃ /H ₂ O ₂ + processo biológico a degradação foi de 79%.	[63]

*Não mencionado

2.2 Métodos de detecção e de quantificação da amoxicilina

A crescente preocupação com a presença de compostos farmacêuticos no meio ambiente, em particular antibióticos, é em grande parte devida aos avanços nas tecnologias analíticas disponíveis. Equipamentos mais sofisticados e novos procedimentos permitiram avaliar os níveis de contaminação, identificar poluentes e medir a sua concentração em diferentes matrizes. As novas metodologias analíticas, desenvolvidas nos últimos anos, têm uma melhor reprodutibilidade e repetibilidade e limites de detecção mais baixos quando comparadas com as existentes até então [64].

Na literatura estão descritos diversos métodos para a determinação da amoxicilina em diferentes matrizes. Na Tabela 4 encontram-se compiladas uma amostra de publicações actuais encontradas para a quantificação da amoxicilina em diversas matrizes, recorrendo a diferentes tecnologias. Os métodos cromatográficos são os mais frequentemente utilizados na sua quantificação, nomeadamente os que recorrem à cromatografia líquida. Os detectores de UV (ultravioleta) e DAD (*Diode Array Detector*) são os mais utilizados devido à maior disponibilidade deste tipo de equipamento, e sobretudo devido à facilidade, rapidez e baixo custo associado à sua utilização. Os detectores de FL (fluorescência) são igualmente utilizados na análise da amoxicilina, mas necessitam de um passo prévio de derivatização, uma vez que este composto não é detectado directamente por fluorescência. Começam também a surgir mais trabalhos que recorrem à detecção por espectrometria de massa. Devido ao seu desempenho analítico, o LC-MS/MS (*Liquid Chromatography-Mass Detector*) é uma ferramenta poderosa, permitindo a análise selectiva mesmo em matrizes complexas. No entanto, o elevado custo e o tempo de operação constituem ainda um problema [65].

Muitas vezes as amostras necessitam de ser sujeitas a uma pré-concentração antes de serem analisadas. Esta etapa permitirá diminuir efeitos de matriz e obter uma melhor sensibilidade. Inicialmente estas eram feitas através de extracções líquido-líquido (LLE), mas mais recente foram suplantadas pelas extracções em fase sólida (SPE) [64]. No entanto, esta técnica é morosa, o que limita o número análises e, para além disso, ainda utiliza um elevado volume de solventes orgânicos [65]. Estes métodos de detecção e quantificação consomem solventes de alta pureza, necessitam de tempo de estabilização e em alguns casos, as amostras precisam de uma preparação especial [64]. Surgem assim como métodos alternativos a electroforese de zona capilar (CZE) e a cromatografia electrocinética micelar (MEKC). Estas técnicas são vantajosas a nível de rapidez, quantidade de amostra utilizada [66] e de economia [67]. Contudo estes métodos ainda pecam por possuírem sensibilidades insuficientes para a detecção de antibióticos em concentrações muito baixas [67]. Recorrendo a MEKC conjuntamente com indução de fluorescência através de laser (LIF) e preparando a amostra através de SPE e derivatização, Serrano e Silva [68] conseguiram obter limites de detecção para a amoxicilina em água superficiais de $45 \times 10^{-3} \mu\text{g.L}^{-1}$, valores comparáveis a alguns métodos de LC-MS.

Os esforços actuais centram-se em atingir limites de detecção cada vez mais baixos, de modo a apurar de uma forma mais aprofundada a extensão da contaminação ambiental, melhorando o equipamento e *software* disponível, bem como as técnicas de preparação/concentração de amostras.

Tabela 4 – Alguns métodos de quantificação de amoxicilina em diversas matrizes aquosas.

Matriz	Extração	Método de quantificação	Linearidade ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	Condições operacionais	Limite de detecção ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	Ref.
Padrão em água	---	HPLC-DAD	*	<i>Coluna:</i> Fenil-hexil (250 x 4,6 mm; 5-6 μm) <i>Fase Móvel:</i> A = H_2O (acetato, pH = 5,0); B = Metanol - Utilização de gradiente <i>Caudal:</i> 1,0 mL.min^{-1} <i>Comprimento de onda de análise:</i> 230 nm	*	[69]
Padrão em água	---	HPLC-DAD	*	<i>Coluna:</i> C6 (-) <i>Fase Móvel:</i> A = H_2O (ácido fosfórico + metanol); B = Acetonitrilo - Isocrático <i>Caudal:</i> 1,0 mL.min^{-1}	*	[70]
Padrão em água	---	LC-MS/MS-ESI(+)	*	<i>Coluna:</i> C18 (50 x 2,2 mm; 5 μm) <i>Fase Móvel:</i> A = H_2O (0,1% ácido fórmico); B = Metanol - Utilização de gradiente	*	[70]
Água superficial	SPE/Deriv.	MEKC-LIF	0,1 - 1	<i>Electrólito base:</i> 15 mM Dodecil sulfato de sódio em 35 mM tetraborato de sódio (0,5 M HCl pH 9,3)	45×10^{-3}	[68]
Água superficial	---	MEKC	*	<i>Electrólito base:</i> 100 mM Dodecil sulfato de sódio em 40 mM tetraborato de sódio, pH 8,5 <i>Comprimento de onda de análise:</i> 210 nm	260	[66]
Águas profundas	SPE	LC-MS/MS- ESI(+)	0,005-0,05	<i>Coluna:</i> C18 (250 x 2 mm; 3 μm) <i>Fase Móvel:</i> A = H_2O (20 mM acetato de amônia pH 6,8); B =Acetonitrilo (20 mM acetato de amônia): Metanol (2:1 v/v) - Utilização de gradiente <i>Caudal:</i> 0,2 mL.min^{-1}	0,0046	[71]
Efluentes urbanos e água marinha	SPE	LC-MS/MS-ESI (+/-)	5 - 100	<i>Coluna:</i> C18 (50 x 2,1 mm; 5 μm) <i>Fase Móvel:</i> A = H_2O (10 mM ácido fórmico); B = Metanol (10 mM ácido fórmico) – Utilização de gradiente <i>Caudal:</i> 0,3 mL.min^{-1}	13×10^{-3} (efl. urbano) 7×10^{-4} (água marinha)	[72]
Efluentes hospitalares, urbanos e água superficial	SPE	LC-MS/MS-ESI(+)	0 - 750	<i>Coluna:</i> C18 (50 x 2 mm; 4 μm) <i>Fase Móvel:</i> A = H_2O (0,1% ácido fórmico); B = Metanol - Utilização de gradiente	20	[13]
Efluente urbano e água superficial	SPE	CZE-DAD	1 - 4	<i>Electrólito base:</i> 80% 175 mM Tris(hidroximetil)aminometano (1M HCl, pH 8) e 20% Metanol <i>Comprimento de onda de análise:</i> 220 nm	0,80	[67]
Efluente residual	---	HPLC-DAD	40 - 400	<i>Coluna:</i> C18 (250 x 4 mm; 5 μm) <i>Fase Móvel:</i> A = H_2O (ácido fosfórico, pH = 2,5); B = Acetonitrilo - Utilização de gradiente <i>Caudal:</i> 0,8 mL.min^{-1} <i>Comprimento de onda de análise:</i> 230 nm	14	[65]
Efluente industrial e água superficial	SPE	LC-MS/MS-ESI(+)	0,1 - 2,0	<i>Coluna:</i> C18 (50 x 2,1 mm; 2,5 μm) <i>Fase Móvel:</i> A = H_2O (0,1% ácido fórmico); B = Metanol; C= Acetonitrilo - Utilização de gradiente <i>Caudal:</i> 0,25 mL.min^{-1}	*	[73]
Efluente industrial e urbano	SPE	HPLC-UV-DAD	0 - 75	<i>Coluna:</i> C18 (150 x 4,6 mm; 5 μm) <i>Fase Móvel:</i> A = H_2O (0,01% ácido trifluoroacético); B = Acetonitrilo (0,01% ácido trifluoroacético) - Utilização de gradiente <i>Caudal:</i> 1,5 mL.min^{-1} <i>Comprimento de onda de análise:</i> 220 nm	5,9 (efl. industrial) 4,2 (efl. urbano)	[74]

* Não mencionado

3 Descrição Técnica

3.1 Preparação do adsorvente

3.1.1 Tratamento da casca de amêndoa

A casca de amêndoa foi gentilmente cedida pela empresa comercializadora *Carqueja Almonds Lda.* e é proveniente de plantações da região do Alto Douro e Trás-os-Montes. Na Figura 4 encontra-se esquematizado o procedimento de tratamento da casca. Foi efectuada uma selecção manual da casca de modo a remover partículas estranhas como folhas, pedras, bem como cascas de dimensões muito reduzidas. De seguida a casca seleccionada foi submetida a diversas lavagens, primeiro em água corrente e posteriormente em água destilada. Após secagem numa estufa a 70 °C durante 48 horas, procedeu-se à sua moagem num moinho Reisch. A fracção com granulometria superior a 600 µm foi separada por meio de crivagem numa peneira Retsch e colocada em cadinhos de porcelana.

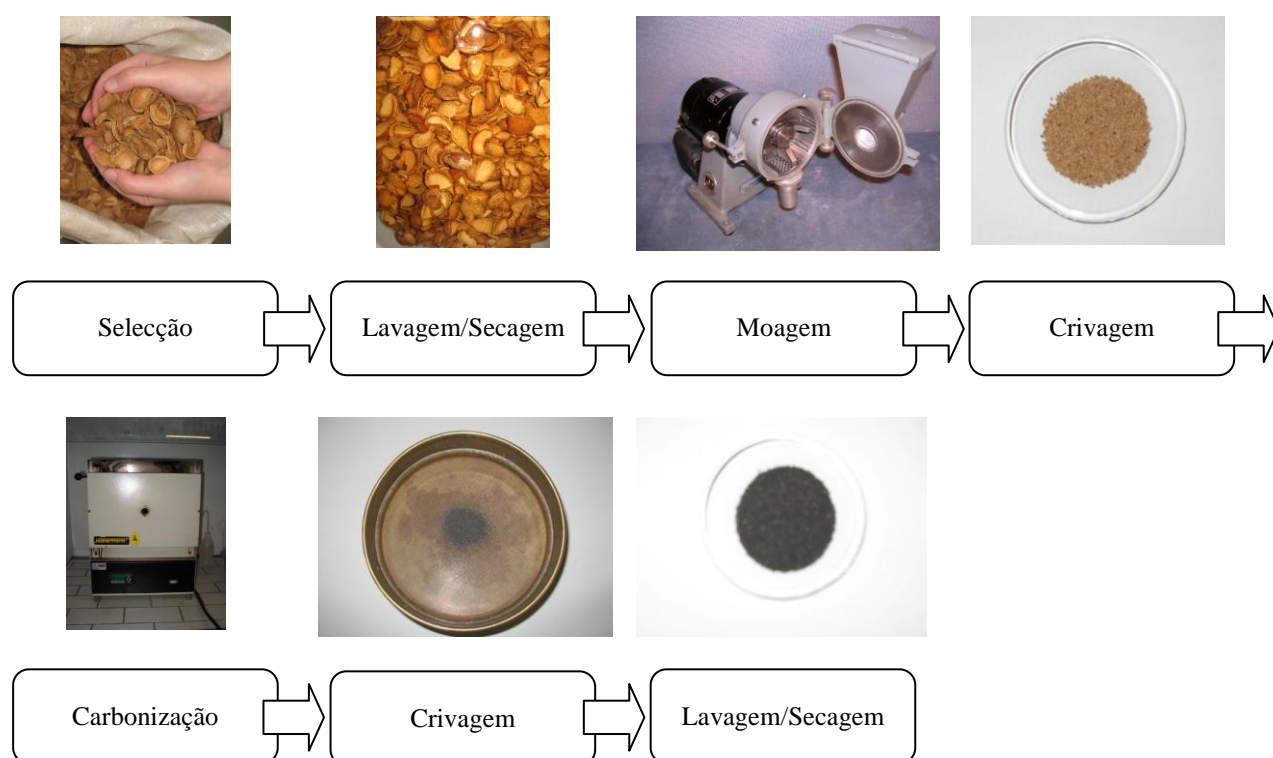


Figura 4 – Esquema do procedimento de tratamento da casca de amêndoa.

A carbonização da casca de amêndoa foi efectuada numa mufla Nabertherm C6 em atmosfera pobre em oxigénio durante 2 horas a contar do ponto em que foi atingida a temperatura final de 700 °C. O granulado carbonizado foi crivado novamente em peneiras Retsch, de modo a obter a fracção de tamanho de partículas compreendida entre $d_p = 425 - 600 \mu\text{m}$. A fracção de granulado com dimensões superiores à indicada foi submetida a uma nova moagem num moinho doméstico e peneirada. Este procedimento foi repetido até que as partículas estivessem na gama de tamanhos pretendida. Finalmente a

casca foi lavada com pequenas porções em água destilada sobre vácuo e colocada numa estufa a secar a 50 °C durante pelo menos 48 horas.

3.1.2 Caracterização do adsorvente

Determinação da granulometria, massa específica real e aparente, porosidade e área superficial externa

A determinação da distribuição de diâmetro de partículas do material adsorvente foi efectuada por granulometria através de um analisador Coulter Counter LS 230. A quantificação da massa específica real e da porosidade teórica foi efectuada por picnometria de hélio. Já para determinar a massa específica aparente, porosidade e área superficial externa foi utilizado um porosímetro de mercúrio QuantaChrome – PoreMaster. É importante referir que este último método apenas permite efectuar quantificações na gama de macro e mesoporosidade (entre 10000 e 3,5 nm).

Determinação da dureza

A determinação da dureza da casca de amêndoa carbonizada foi efectuada seguindo a metodologia descrita por Ahmedna *et al.* [75]: aproximadamente 2 g de casca de amêndoa carbonizada ($d_p = 425 - 600 \mu\text{m}$) foram pesadas, colocadas num frasco de Erlenmeyer de 250 mL juntamente com 10 esferas de vidro ($d=1,5 \text{ cm}$; $m=5,5 \text{ g}$) e agitadas numa orbital GFL 3022 a 200 rpm durante 20 min à temperatura ambiente. Posteriormente a casca foi separada numa peneira Retsch com tamanho de orifícios de passagem de 425 μm e foi pesada a fracção retida. Estes ensaios foram efectuados em duplicado.

Através deste ensaio foi possível obter um número da dureza que traduz a razão da massa das partículas que permaneceram intactas e a massa inicial do adsorvente:

$$\text{Nº de dureza (\%)} = \frac{\text{massa das partículas intactas (g)}}{\text{massa inicial da amostra (g)}} \times 100 \quad (2)$$

Determinação de minerais hidrossolúveis

Para estudar a presença de minerais hidrossolúveis colocou-se uma suspensão de 1% (m/m) de casca de amêndoa carbonizada em água desionizada a agitar em matrizes de 150 mL durante 20 min à temperatura ambiente. De seguida foi medida a sua condutividade através de um condutímetro WTW LF S 38. Foram preparadas 3 amostras e um branco, contendo apenas água desionizada. Este procedimento foi seguido de acordo com o trabalho de Ahmedna *et al.* na caracterização de carvões obtidos a partir de resíduos da agricultura [75].

Determinação do pH no ponto de carga nula

Para esta análise foram colocados em vários matrizes 50 mL de solução 0,01M NaCl e borbulhou-se azoto de modo a estabilizar o pH da solução, prevenindo a dissolução de CO₂. O pH foi ajustado entre 2 e 12 através da adição de solução 0,1M HCl ou 0,1 M NaOH. A cada matraz adicionou-se \pm 150 mg de amostra, deixando-se a suspensão sob agitação a 20 °C, durante 48h. Ao fim desse intervalo de tempo, mediu-se o pH final da solução. Todos estes ensaios foram efectuados em duplicado.

O pH no ponto de carga nula corresponde ao valor de pH aonde a curva pH final vs pH inicial cruza a linha pH final = pH inicial. Esta metodologia, normalmente designada por *pH drift method*, seguiu o procedimento aconselhado por Rivera-Utrilla *et al.* [76].

Análise por espectroscopia de infravermelho associado a transformadas de Fourier

O espectro de infravermelho foi obtido num espectrómetro Bomem MB-Series (Arid-ZoneTM). A gama definida para a energia incidente foi de 4000 a 450 cm⁻¹. O espectro IV foi obtido com uma resolução de 4 cm⁻¹ e 22 scans. min⁻¹.

Análise termogravimétrica

A análise termogravimétrica do adsorvente permitiu determinar através da perda de massa durante um processo de aquecimento os teores de humidade, voláteis, carbono fixo e cinzas.

Para esta análise utilizou-se um sistema de análise térmica Netzsch TG 209 F1. Cerca de 30 mg de amostra foram aquecidos numa atmosfera de azoto (30 cm³. min⁻¹) de 25 a 950 °C a 250 °C.min⁻¹, seguido de um patamar isotérmico de 9 min. Nos últimos 20 min o gás foi alterado para oxigénio (30 cm³. min⁻¹) e a temperatura mantida nos 950 °C. A humidade do material foi determinada pela perda de massa entre 25 e 110 °C, enquanto a fracção de matéria volátil entre 110 e 950 °C. O carbono fixo foi calculado através da perda de massa em atmosfera oxidante e o teor de cinzas correspondeu ao resíduo final.

Análise elementar

A análise da composição elementar das amostras foi determinada num analisador elementar CHNS Carlo Erba Instruments EA 1108, acoplado a um computador com um programa de controlo, aquisição e tratamentos de dados Eager 200, do Laboratório de Catálise de Materiais (LCM-FEUP). Com este equipamento foi possível determinar o teor de carbono, oxigénio, hidrogénio e azoto da casca de amêndoa carbonizada. Os ensaios foram realizados em triplicado.

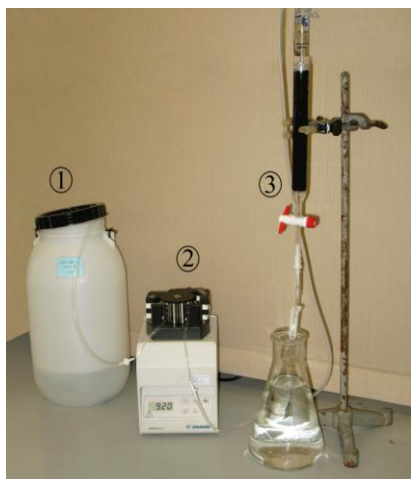
Análise por microscopia electrónica de varrimento (SEM)

A microscopia electrónica de varrimento permite a aquisição de imagens da topografia da superfície através do varrimento da amostra com um feixe de electrões de alta energia. Através da interacção entre

os electrões incidentes e os átomos da superfície da amostra, também é possível obter informações sobre a sua composição. Neste trabalho, as imagens da superfície do adsorvente foram obtidas num microscópio FEI QUANTA 400 FEG ESEM do Centro de Materiais da Universidade do Porto (CEMUP). Para além disso, determinou-se também os elementos à superfície com número atómico entre 6 e 92, uma vez que ao sistema anterior se encontra acoplado um espectrómetro de dispersão de energias (EDS) EDAX PEGASUS X4M.

3.2 Adsorção em coluna de leito fixo

Os ensaios de adsorção em leito fixo foram realizados numa coluna de vidro de 2 cm de diâmetro e 26 cm de altura. Na Figura 5 apresenta-se uma fotografia da instalação experimental desenvolvida para os ensaios de adsorção em leito fixo.



1. Reservatório de solução de amoxicilina
2. Bomba peristáltica
3. Coluna com enchimento de casca de amêndoa carbonizada

Figura 5 – Montagem experimental para ensaios de adsorção em leito fixo.

A casca de amêndoa carbonizada (correspondente à altura de leito pretendida) foi colocada num exsiccador e pesada. Posteriormente foi colocada em água destilada pelo menos 24 horas antes do seu uso e desgaseificada num banho de ultra-sons. A coluna foi empacotada com a casca de modo a criar um leito compacto e uniforme. No topo deste leito foram colocadas esferas de vidro ($d = 4$ mm) até uma altura de 2 cm de modo a evitar a flutuação de partículas do leito e permitir uma distribuição uniforme do efluente.

A alimentação da solução de amoxicilina foi efectuada através de uma bomba peristáltica Gilson Minipuls (utilizando tubos de Tygon) pelo topo da coluna. O fluido percorria o leito até ser recolhido na base da coluna à qual se encontrava ligada uma torneira e um grampo de aperto (para regulação do caudal). O efluente era recolhido em contentores devidamente identificados para posterior tratamento de resíduos. Em intervalos regulares, recolheu-se cerca de 5 mL de amostra para frascos de vidro de 20 mL e colocou-se no frigorífico para posterior análise por meio de HPLC/DAD. A solução de alimentação foi preparada através da diluição em água destilada de uma quantidade apropriada de solução mãe de

amoxicilina e colocada num recipiente de 10 litros. Aquando de cada reposição de solução era tirada uma amostra para determinação da concentração exacta.

Para estudar o efeito da concentração de amoxicilina na solução de alimentação na adsorção em leito fixo, efectuaram-se 3 ensaios preparando soluções de amoxicilina de concentração aproximada de 0,25, 1 e 10 mg.L⁻¹. A altura do leito (4 cm) e o caudal (12 mL.min⁻¹) foram mantidos constantes.

De modo a avaliar o comportamento do leito a diferentes caudais, prepararam-se 2 experiências, utilizando alturas de leito e concentrações de amoxicilina iguais (4 cm e 1 mg.L⁻¹, respectivamente) e caudais de alimentação de 6 e 12 mL.min⁻¹.

Para estudar o efeito da altura do leito na adsorção, utilizaram-se leitos de casca de amêndoa carbonizada de 2, 4 e 6 cm de altura. A concentração de amoxicilina foi mantida constante (1 mg.L⁻¹), bem como o caudal de alimentação (12 mL.min⁻¹).

Todos ensaios foram realizados à temperatura ambiente e à pressão atmosférica.

3.3 Quantificação da amoxicilina por HPLC-DAD

Com vista a avaliar a capacidade de remoção da amoxicilina pela casca de amêndoa carbonizada, tornou-se necessário desenvolver um método analítico. Tendo em conta a gama de concentrações utilizadas nos ensaios de adsorção, o tempo de análise e o equipamento disponível, optou-se pela quantificação por HPLC-DAD pelo método do padrão externo.

3.3.1 Reagentes

Para a preparação da fase móvel foi utilizado Metanol HiPerSolv CHROMANORM para HPLC, bem como ácido *orto*-fosfórico 85% Normapur, ambos VWR BDH PROLABO®.

3.3.2 Equipamento

Para determinar o comprimento de onda de absorção máxima do analito em estudo, adquiriu-se os espectros de absorção num UV-VIS espectrofotómetro Jasco V-530.

As análises cromatográficas foram efectuadas utilizando um sistema de HPLC Hitachi Elite LaChrom, constituído por uma bomba L-2130, um *autosampler* L-2200 e um detector *Diode Array* (DAD) L-2455. Os dados foram adquiridos e processados através do *software* EZChrom Elite® 3.1.6.

A separação por cromatografia foi realizada através de uma coluna de fase reversa Purospher® STAR LichroCART® RP 18 endcapped (250x4 mm, 5 µm) em combinação com uma pré-coluna Purospher® STAR LichroCART® RP 18 endcapped (4x4 mm, 5 µm).

3.3.3 Procedimento experimental

Para a quantificação da amoxicilina por HPLC-DAD optou-se por desenvolver um método analítico próprio. De modo a atingir este objectivo em tempo útil efectuou-se uma abordagem sistemática ao problema [77]:

- Definição dos principais objectivos do método analítico. Pretendeu-se desenvolver um método sensível e expedito, atendendo à gama baixa de concentrações e ao elevado número de amostras a analisar.
- Sendo a amoxicilina um composto farmacêutico complexo, tentou-se ajustar os parâmetros de análise de HPLC-DAD às suas propriedades químicas.
- Após a determinação das condições preliminares de análise, procedeu-se à optimização dos parâmetros do método analítico.
- A validação do método analítico, de acordo com as recomendações da Eurachem [78], constituiu a última etapa deste processo.

3.3.4 Acondicionamento, destino e tratamento de resíduos

Os resíduos líquidos gerados consistiam geralmente em soluções aquosas de amoxicilina (ensaio de coluna) e soluções contendo água, metanol, amoxicilina e vestígios de ácido *orto*-fosfórico. Foram recolhidos em recipientes fechados e colocados longe da luz e de fontes de ignição para posterior tratamento de resíduos por parte do EcoFEUP.

O resíduo sólido (casca de amêndoa carbonizada saturada com amoxicilina) foi embalado e será destinado à valorização energética (incineração). O preço e as quantidades geradas deste adsorvente são demasiado pequenos para justificar tratamentos mais dispendiosos. No entanto, já existem processos comercialmente implementados que permitem a regeneração térmica dos adsorventes, nomeadamente de carvões activados [79].

4 Resultados e Discussão

4.1 Caracterização da casca de amêndoa carbonizada

De modo a compreender melhor a estrutura da casca de amêndoa carbonizada e com o objectivo de poder relacionar a estrutura com os resultados obtidos nos ensaios de adsorção em leito fixo, procedeu-se à caracterização do material.

4.1.1 Determinação da granulometria, massa específica real e aparente, porosidade e área superficial externa

Na Figura 6 apresenta-se a distribuição de tamanhos de partículas. As partículas apresentam granulometrias compreendidas entre 388,8 e 875,4 μm de diâmetro. O valor médio situa-se em 632,1 μm , o que comparando a carvões activados comerciais para tratamento de águas corresponde a carvão granulado (GAC) (100-1000 μm) [80]. Embora partículas de diâmetro inferior apresentem a vantagem de possuírem áreas maiores (por unidade de massa), provocarão maiores perdas de pressão em aplicações de leito, bem como terão a desvantagem de serem menos resistentes ao atrito.

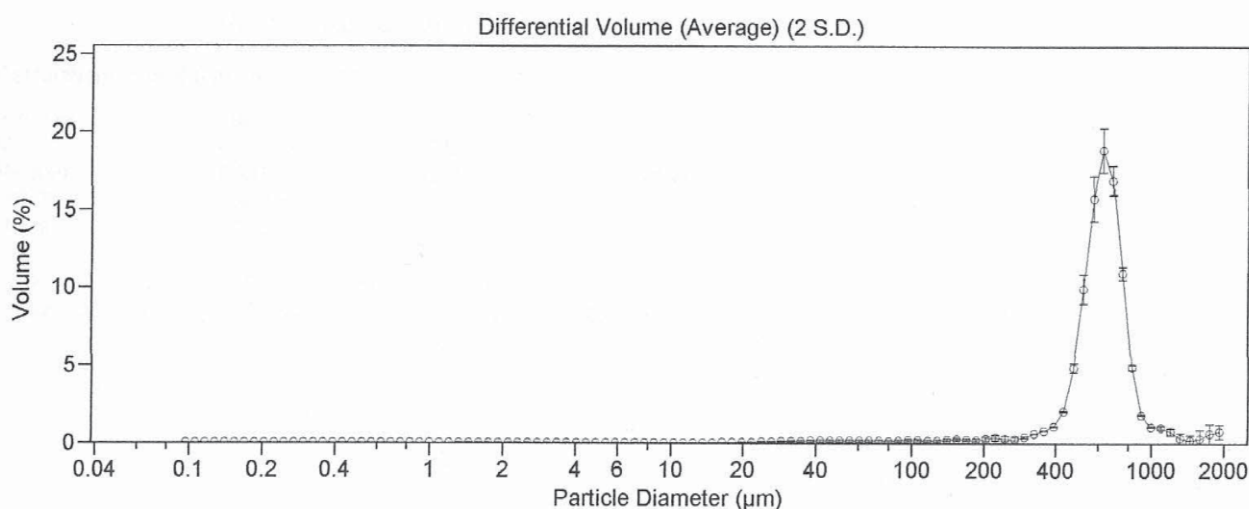


Figura 6 – Distribuição de tamanhos das partículas de casca de amêndoa carbonizada.

A Tabela 5 apresenta outras propriedades determinadas para este material adsorvente. É importante salientar que estes resultados devem ser encarados com alguma reserva. Devido ao método utilizado não é possível tirar conclusões sobre a presença ou ausência de microporos, uma vez que o método de porosimetria de mercúrio utilizado apenas permite determinar diâmetros de poros superiores a 0,0035 μm .

Tabela 5 – Propriedades da casca de amêndoa carbonizada.

Propriedades	Valores
Densidade real (g.cm^{-3})	1,77
Densidade aparente (g.cm^{-3})	0,95
Área superficial externa ($\text{m}^2.\text{g}^{-1}$)	78,5
Porosidade interparticular parcial (%)	0,63
Porosidade intraparticular parcial (%)	32,27
Porosidade parcial (%)	30,90
Gama de diâmetros dos poros* (μm)	0,004 – 10,238
Diâmetro médio dos poros* (μm)	0,02

*apenas meso e macroporos

Os diâmetros de poros situam-se entre 0,004 e 10,238 μm , o que de acordo com a classificação da IUPAC corresponde a meso (0,002-0,05 μm) e macroporos ($> 0,05 \mu\text{m}$). Para a determinação de microporos seria necessário recorrer a ensaios de adsorção com azoto (BET). No entanto não foi possível obter a tempo estes resultados. Quando comparado com o carvão activado granular ($d_p=0,003-0,006 \mu\text{m}$) [80] verifica-se que a casca carbonizada apresenta diâmetro de poros médios semelhantes. No entanto quando se analisa a área superficial parcial ($78 \text{ m}^2.\text{g}^{-1}$) constata-se que está é aproximadamente 10 vezes inferior ao GAC ($700-1300 \text{ m}^2.\text{g}^{-1}$). Salvaguarda-se que para a casca de amêndoa carbonizada não foi contabilizada a área superficial correspondente aos microporos, pelo que na realidade ela será superior ao que aqui foi determinado.

4.1.2 Estudo da dureza do material

Ao longo do funcionamento da coluna de adsorção, as partículas que constituem o leito estão sujeitas a forças de atrito, resultantes do choque entre si. Este atrito tem como consequência a degradação física do enchimento da coluna, levando a que as partículas se reduzam a pó e sejam arrastadas pelo efluente, ditando o fim da vida útil do adsorvente. Assim, é desejável que o material adsorvente ofereça uma boa resistência ao atrito permitindo o funcionamento por longos períodos de tempo.

Na Tabela 6 apresenta-se a resistência ao atrito da casca de amêndoa carbonizada, determinada através do número de dureza [75], bem como os valores de comparação obtidos a partir de fontes bibliográficas para um carvão activado comercial (Calgon CPG LF) usado no tratamento de águas e outros carvões obtidos a partir de resíduos agrícolas. A casca de amêndoa utilizada nestas experiências apresenta uma dureza equivalente à do carvão activado comercial, demonstrando ser adequado à utilização em leitos fixos.

4.1.3 Determinação de minerais hidrossolúveis

A determinação dos minerais hidrossolúveis permite tirar conclusões sobre a quantidade de cinzas lixiáveis. Estas não são desejáveis em carvões para tratamento de águas, já que constituem uma fonte de impurezas [81]. Conforme a Tabela 6, a condutividade da casca de amêndoa carbonizada é bastante inferior à do carvão comercial (11 μS para a casca e 25 μS para o carvão comercial), indicando um baixo teor em minerais hidrossolúveis. Isto deve-se à ausência da utilização de ácidos ou bases (para efeitos de activação), bem como às lavagens efectuadas durante a preparação do adsorvente, removendo praticamente todo material lixiviável.

Tabela 6 – Dureza e condutividade de carvões.

	Nº Dureza (%)	Condutividade (μS)	Referência
Casca de amêndoa carbonizada	75 ± 1	$11,1 \pm 0,8$	
Calgon CPG LF (activado)	74 ± 2	25 ± 4	[66]
Casca nogueira-pecã carbonizada (activada)	83 ± 1	170 ± 15	[66]
Bagaço de cana-de-açúcar carbonizado (activado)	40,26	51,85	[73]

4.1.4 Determinação do pH no ponto de carga nula

Quando os materiais adsorventes são colocados em suspensão numa solução electrolítica criam-se cargas eléctricas à superfície devido à dissociação dos grupos hidroxilo presentes na superfície e à complexação dos iões do electrólito [82]. Em suspensões de carvões, os iões H^+ e OH^- são considerados os determinantes de potencial (iões que exercem o controlo de carga e do potencial de superfície da fase dispersa) [83]. Logo, dependendo quer do pH, quer da concentração do electrólito, as superfícies do adsorvente podem ter carga *net* positiva, negativa ou neutra.

Na Figura 7 está representada a curva pH final vs pH inicial.

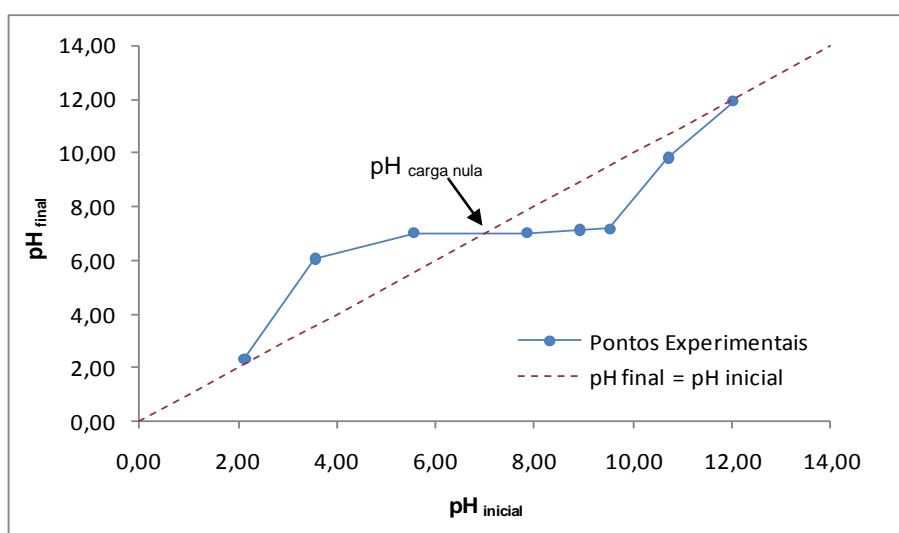


Figura 7 – Determinação da carga superficial do adsorvente pelo método da variação do pH.

Como se pode verificar na Figura 7, a casca de amêndoa carbonizada possui um comportamento anfotérico [84]. Quando o pH é inferior ao $\text{pH}_{\text{carga nula}}$ ($\text{pH}=7,02 \pm 0,06$), a superfície do adsorvente estará carregada positivamente, enquanto a pH superior estará carregada negativamente.

Nos ensaios de adsorção realizados com casca carbonizada de amêndoa não se efectuou nenhum acerto de pH do efluente a tratar ($\text{pH}_{\text{efluente}} \approx 6,5$). A este valor de pH, a superfície do adsorvente estará com uma carga ligeiramente positiva. Tal como indicado pela Figura 10, a $\text{pH}=6,5$ a amoxicilina terá grupos carregados positiva ($-\text{NH}_3^+$) e negativamente ($-\text{COO}^-$), embora estes últimos deverão estar em maior proporção. Logo, o adsorvente deverá ter afinidade para o analito.

4.1.5 Determinação do espectro de infravermelho associado a transformadas de Fourier (FTIR)

Os espectros de infravermelhos permitem identificar grupos funcionais presentes na amostra em estudo (casca carbonizada) através dos valores da frequência de absorção. O espectro de IV obtido para a casca de amêndoa carbonizada está representado na Figura 8.

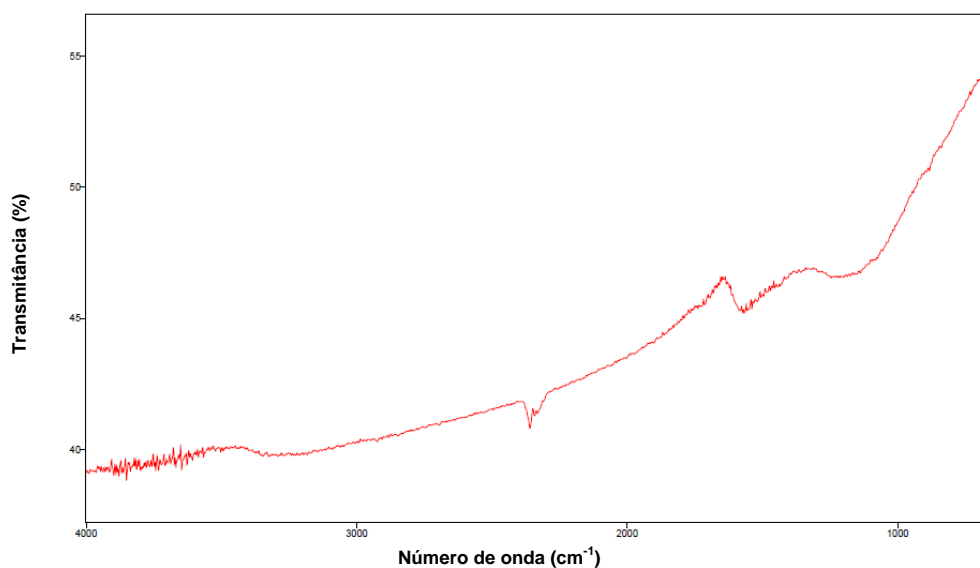


Figura 8 – Espectro de infravermelho.

Os resultados obtidos com esta análise não permitiram inferir sobre as interações entre os constituintes da casca de amêndoa carbonizada e o composto em estudo. As bandas presentes no espectro correspondem ao dióxido de carbono adsorvido pelo material durante o processo de carbonização.

4.1.6 Estudo termogravimétrico (TG)

Os ensaios de termogravimetria realizados permitiram determinar a perda de massa do material adsorvente durante o seu aquecimento, numa primeira fase em atmosfera inerte seguida de atmosfera oxidante. Na primeira etapa de aquecimento determinou-se o teor de matéria volátil, enquanto na segunda

se obteve a fracção de carbono fixo. O resíduo final correspondeu à fracção de cinzas. Os resultados deste estudo são apresentados na Tabela 7.

Tabela 7 – Análise imediata do material adsorvente utilizado e da casca de amêndoa ao natural, indicando as fracções mássicas em base seca.

	% Voláteis	% Carbono fixo	% Cinzas
Casca de amêndoa	81,9	18,1	≈ 0
Casca de amêndoa carbonizada	24,1	75,9	≈ 0
Carvão activado (Norit GAC) ¹	5,5	88,8	5,7

¹ Adaptado de Faria *et al.* [85]

Tal como esperado, a casca de amêndoa carbonizada possui um elevado teor de carbono fixo quando comparada com a casca de amêndoa ao natural. Este resultado é indicativo da eficácia do processo de carbonização. Por outro lado, as fracções mássicas obtidas são semelhantes às de um carvão activado.

4.1.7 Análise Elementar

A avaliação da composição elementar de uma amostra é efectuada através da combustão rápida do material numa câmara fechada, analisando-se os gases resultantes (CO₂, H₂O, N₂) por cromatografia gasosa. Na Tabela 8 apresentam-se os resultados obtidos.

Tabela 8 – Análise elementar do material adsorvente em percentagem mássica (base seca e sem cinzas).

	% C	% O	% N	% H
Casca de amêndoa carbonizada	90,49 ± 0,03	1,10 ± 0,02	0,34 ± 0,07	8,07 ± 0,10
Carvão activado (Norit GAC) ¹	94,9	3,6	0,2	0,3

¹ Adaptado de Faria *et al.* [85] Contém também 1,0 % de enxofre.

Tal como era esperado, a casca de amêndoa carbonizada é constituída essencialmente por carbono. As percentagens mássicas dos elementos determinados são bastante idênticas às de um carvão activado.

4.1.8 Microscopia electrónica de varrimento (SEM)

A morfologia do adsorvente foi estudada através de microscopia electrónica de varrimento. Na Figura 9, encontram-se as imagens obtidas de casca de amêndoa carbonizada, analisada em baixo vácuo. Com uma ampliação de 100x (Fig. 9a) constata-se que as partículas de adsorvente apresentam formas e dimensões homogéneas. Aumentando para uma ampliação de 2500x (Fig. 9b), verifica-se que existem poros distribuídos ao longo de toda a superfície do material, criando as condições propícias à adsorção. Na Figura 9c, é possível identificar poros (maioritariamente macroporos) à superfície do adsorvente, encontrando-se na Figura 9d uma perspectiva de um desses poros.

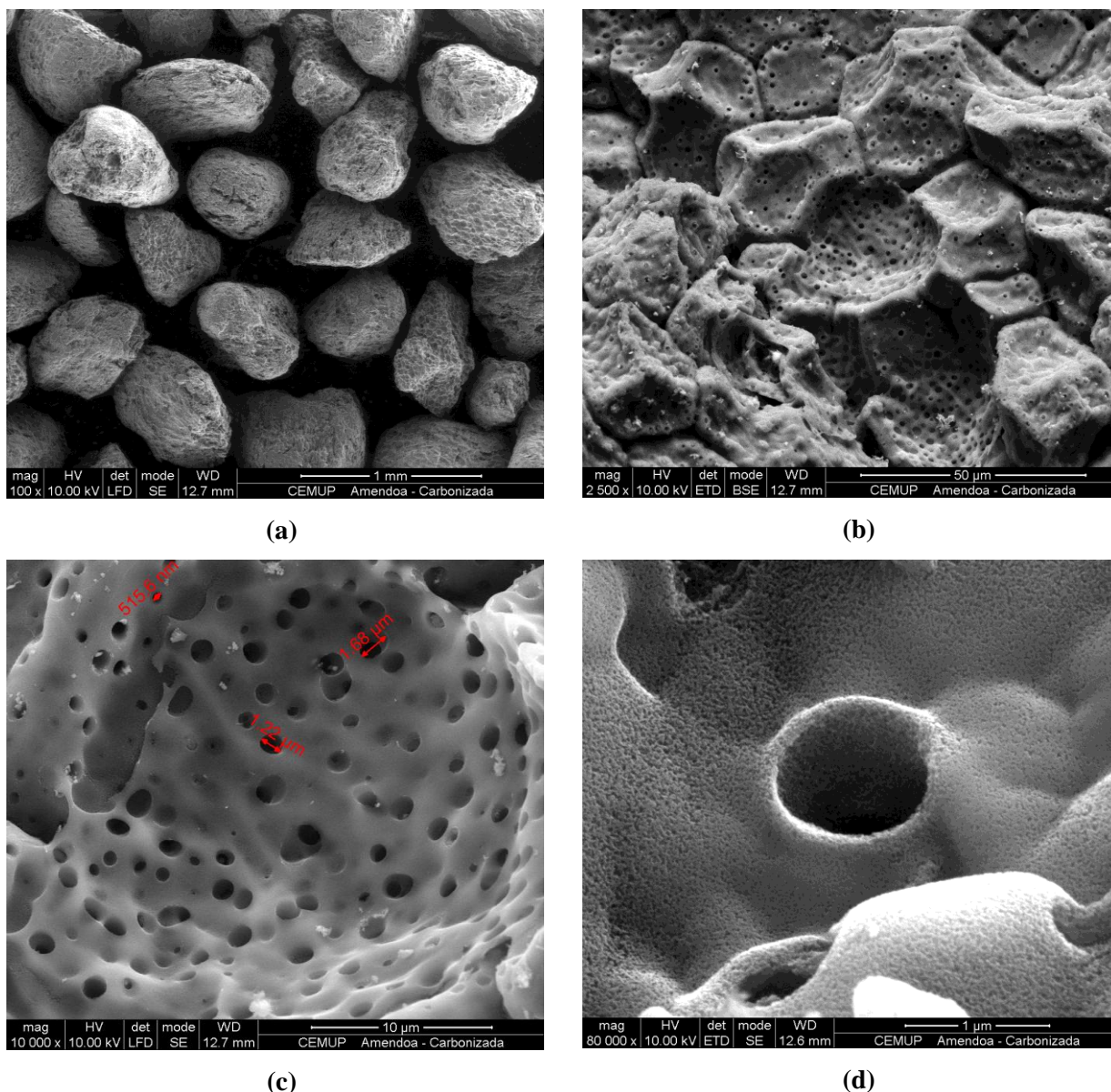


Figura 9 – Imagens de microscopia electrónica de varrimento a diferentes ampliações: (a) 100x, (b) 2500x, (c) 10000x, (d) 80000x.

Relativamente aos resultados obtidos por microanálise de raio X, é importante referir que esses dados apenas fornecem uma ideia sobre a constituição da superfície. Quer para a análise de SEM, quer para a de EDS, a amostra é colocada sobre uma fita de carbono. Como o principal constituinte do adsorvente é exactamente o carbono, poderão ocorrer alguns erros nas leituras. Com análise em EDS obteve-se que o material adsorvente era constituído por 84,32% C, 14,61% O e 1,07% K.

4.2 Optimização e validação do método analítico

4.2.1 Escolha da fase móvel

▪ Água acidificada

A amoxicilina é um composto anfotérico apresentando 3 constantes de dissociação, conforme indicado na Figura 10 [86]. Para valores de pH intermédios (entre 3 e 6), a amoxicilina encontra-se sobre a forma de um *zwitterion*, estando as suas várias formas iónicas em equilíbrio eléctrico.

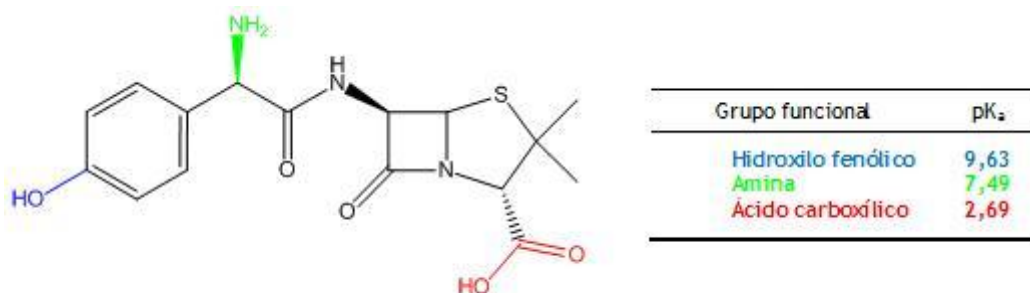


Figura 10 – Estrutura química da amoxicilina e valores de pKa.

Em análise cromatográfica, diferentes formas iónicas de um mesmo composto terão interações distintas com a fase móvel e a fase estacionária. Isto traduzir-se-á em tempos de retenção diferentes, colocando alguns problemas a nível analítico. De modo a ultrapassar este problema, optou-se pela acidificação da água, convertendo assim praticamente toda a amoxicilina presente à sua forma catiónica. Como a sílica presente na fase estacionária da coluna apenas suporta valores de pH compreendidos entre 2 e 8 e como a amoxicilina sofre hidrólise do seu anel β -lactâmico em meio extremamente ácido [87], optou-se por um valor de pH = 2,6. O ácido *orto*-fosfórico foi seleccionado por ser não tóxico, por apresentar um pK_a próximo do valor de pH pretendido e pelo facto de não precipitar na coluna, mesmo em misturas de 99,5 % de metanol [88].

▪ Metanol

O acetonitrilo é um dos solventes mais utilizados e mais versáteis na preparação de fases móveis para HPLC. No entanto, devido à actual escassez deste produto e consequente aumento de preço, optou-se por não recorrer a este solvente, e utilizar metanol.

4.2.2 Escolha do comprimento de onda

Embora o detector DAD do sistema HPLC permita a aquisição numa gama de comprimentos de onda entre 200 e 400 nm, optou-se por efectuar previamente ensaios num espectrofotómetro UV-VIS, de modo a definir o comprimento de onda de trabalho.

Traçou-se o espectro de uma solução aquosa de amoxicilina, tendo-se verificado o máximo de absorção para $\lambda = 210$ nm. Para comprovar que o metanol era adequado, traçou-se também o seu espectro, verificando a sua transparência para este comprimento de onda. Através do espectro de uma solução de amoxicilina em metanol, salvaguardou-se que não houve alterações no máximo de absorção por efeito bato- ou hipsocrómico.

Posteriormente foi adquirido um espectro de referência no próprio sistema de HPLC para uma amostra de amoxicilina de 5 mg.L^{-1} , servindo esta como biblioteca de referência para a função intrínseca de comparação e identificação de espectros do *software* de HPLC.

4.2.3 Optimização do tempo de retenção e resposta do equipamento

Utilizando um padrão de amoxicilina de 1 mg.L^{-1} preparado em água destilada, efectuaram-se vários ensaios para determinar a proporção ideal de água/metanol na fase móvel. Os ensaios foram realizados em duplicado, tendo-se registado para cada um deles o tempo de retenção e a área do pico correspondente à amoxicilina, conforme ilustrado na Figura 11. O caudal utilizado foi de $0,8 \text{ mL.min}^{-1}$.

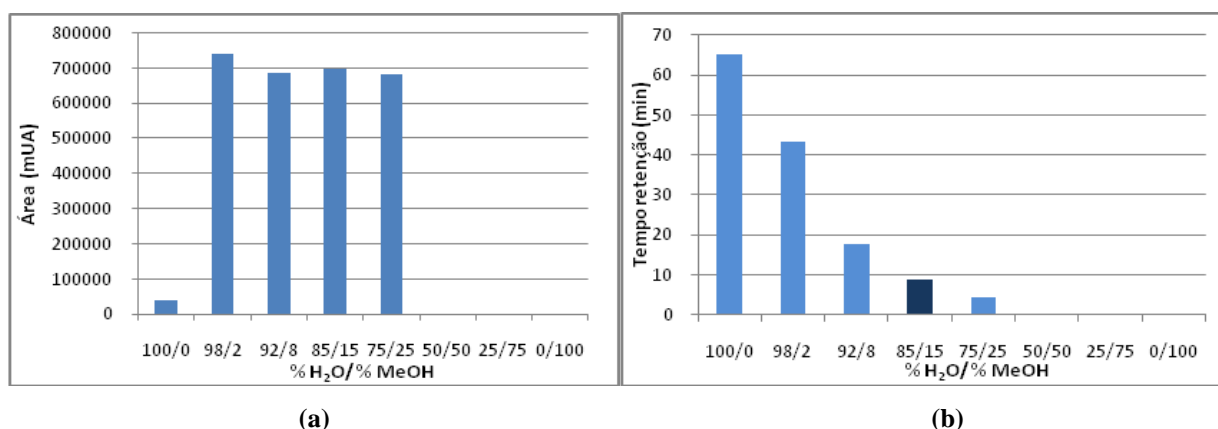


Figura 11 – Área do pico (a) e tempo de retenção (b) da amoxicilina para várias composições de fase móvel.

Como se pode concluir pela Figura 11 a), não se verificam alterações significativas das áreas do pico da amoxicilina com a variação da composição da fase móvel. Optou-se então por efectuar a selecção da proporção ideal água/metanol na fase móvel com base no tempo de retenção do pico da amoxicilina. Conforme indicado pela Figura 11 b), um aumento do teor de metanol provoca a redução no tempo de retenção. A partir de sensivelmente 50% H₂O / 50% metanol o pico correspondente à amoxicilina encontrar-se-á sobreposto ao pico da fase móvel, não estando por isso visível nos cromatogramas. Assim, encontrando o compromisso entre um tempo de retenção suficientemente curto para permitir análises expeditas e não demasiado próximo do tempo de retenção do pico da fase móvel, optou-se pela composição da fase móvel de 85% H₂O / 15% metanol.

As condições de análise mais apropriadas para os objectivos estabelecidos estão sumarizadas na Tabela 9.

Tabela 9 – Condições analíticas para o método desenvolvido.

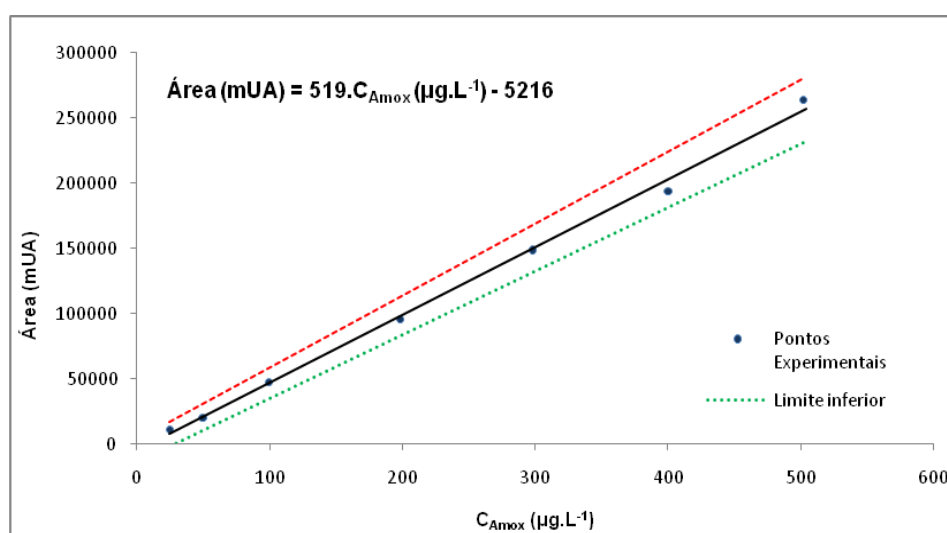
Composição fase móvel:	85% H ₂ O (pH ≈ 2,6) / 15 % Metanol
Caudal:	0,8 mL.min ⁻¹
Comprimento de onda:	230 nm
Temperatura da coluna:	Ambiente
Tempo de corrida:	15 min
Tempo de retenção:	≈ 8.5 min

4.2.4 Parâmetros de validação do método analítico

A validação visa assegurar que o método analítico produz resultados válidos, tendo em conta os objectivos previamente definidos para este processo. Por esta razão, deve ser efectuada a avaliação de parâmetros de desempenho, testes interlaboratoriais, bem como testes de controlo de qualidade [89]. Segundo as recomendações da *EURACHEM/CITAC Guide* [90], um estudo de validação deve compreender a avaliação de parâmetros de linearidade, limites de detecção, precisão, exactidão e da incerteza global do método.

Estudo da linearidade

Para o estudo da linearidade da resposta do detector foram preparados 7 padrões de amoxicilina em água destilada, numa gama de concentrações compreendidas entre 25 e 500 µg.L⁻¹, que foram analisados em duplicado (Anexo 2). Com base nestes resultados obteve-se uma recta de calibração e os intervalos de confiança para uma probabilidade de 95%, conforme ilustra a Figura 12.

**Figura 12** – Recta de calibração e respectiva banda de confiança.

Uma recta de calibração é considerada adequada para efeitos de quantificação quando cumpre os seguintes critérios empíricos [91]:

1. O desvio-padrão relativo de declive (s_a/a) é inferior a 5%;
2. O coeficiente de correlação, r é superior a 0,995;
3. A ordenada na origem contém a própria origem ($b - s_b < 0 < b + s_b$).

Na Tabela 10, pode-se verificar que com excepção do 3º critério, todos os restantes critérios foram cumpridos. O facto da ordenada na origem não estar compreendida num intervalo que contenha a própria origem, implica que para uma concentração nula não está garantida uma resposta nula.

Tabela 10 – Parâmetros referentes a linearidade da recta de calibração.

s_a/a	$b-s_b$ (mUA)	$b+s_b$ (mUA)	r
2%	-8690	-1743	0,999

Limites de detecção e de quantificação

Os limites de detecção e de quantificação são determinados com vista a estabelecer o limite inferior da gama de trabalho do método [92]. Para este método analítico determinou-se o limite de detecção (LD) e o limite de quantificação (LQ) com base na razão sinal/ruído (S/N). O limite de detecção e quantificação determinados foram de $9 \mu\text{g.L}^{-1}$ ($S/N = 3$) e $29 \mu\text{g.L}^{-1}$ ($S/N = 10$), respectivamente. No Anexo 2 encontram-se também determinados os limites a partir da recta de calibração.

Precisão

A precisão foi avaliada quer pela repetibilidade, quer pela precisão intermédia. A repetibilidade visa demonstrar a proximidade entre os resultados de sucessivas medições do mesmo analito, nas mesmas condições, num curto período de tempo [90]. Para este método foi determinada através de 6 medições sucessivas de padrões de amoxicilina, a 3 níveis de concentração [92].

A precisão intermédia mede a capacidade do método fornecer resultados próximos do mesmo analito sobre diferentes condições (operador, dia de análise, etc.) [90]. Foram efectuadas análises a 3 níveis de concentrações, em 6 dias consecutivos [92]. Os resultados obtidos estão resumidos na Tabela 11.

Tabela 11 – Resultados de repetibilidade e precisão intermédia.

	$25 \mu\text{g.L}^{-1}$	$200 \mu\text{g.L}^{-1}$	$500 \mu\text{g.L}^{-1}$
Repetibilidade (% CV)	22,3	2,0	1,4
Precisão intermédia (% CV)	8,5	3,5	1,1

Como se esperava, verificou-se um coeficiente de variação superior para o padrão de concentração mais baixa, o que indica uma maior incerteza do método para níveis de concentrações mais baixos.

Exactidão

A exactidão é o grau de concordância entre os resultados da análise e um valor aceite como referência (ou seja, como valor correcto) [92]. Esta pode ser avaliada utilizando material de referência certificado ou através de ensaios de recuperação. Para este método, a exactidão foi determinada através de testes de recuperação - seis ensaios a 3 níveis de concentração. A recuperação foi obtida através do quociente entre a concentração obtida pela análise e a concentração esperada.

Tabela 12 – Resultados de exactidão.

	$25 \mu\text{g.L}^{-1}$	$200 \mu\text{g.L}^{-1}$	$500 \mu\text{g.L}^{-1}$
Recuperação (%)	119 ± 6	98 ± 3	103 ± 1

É possível constatar que para o extremo inferior da gama de trabalho deste método, as concentrações determinadas tendem ser superiores ao teoricamente previsto. Para o nível de concentração mais baixo, a diferença entre o valor determinado e o valor de referência é mais significativa. Isto está em linha com a maior incerteza para níveis de concentração mais baixos.

Incerteza global

A avaliação da incerteza global, com base na metodologia descrita pela EURACHEM [90] (metodologia *bottom-up*), tem em conta as contribuições de todas as fontes de incerteza, permitindo constatar quais as que mais influenciam o resultado. Consideraram-se quatro fontes essenciais de incerteza: a incerteza associada à preparação de padrões (U_1), a incerteza associada à recta de calibração (U_2) e as incertezas relativas à determinação da precisão (U_3) e exactidão (U_4). Contabilizando a influência de cada uma destas fontes é calculado uma incerteza global (U_{global}). No Anexo 3 está resumido o procedimento de cálculo, incluindo todas as expressões necessárias para estimar a incerteza global. Na Tabela 13 são apresentadas as incertezas associadas às fontes consideradas, assim como o valor da incerteza global.

Tabela 13 – Valores obtidos para as incertezas associadas a cada uma das fontes e para o coeficiente global.

C ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	% U_1	% U_2	% U_3	% U_4	% U_{global}
25	1,3	31,6	2,4	2,5	31,8
50	0,4	19,2	2,4	2,5	19,5
100	1,2	8,9	1,1	1,3	9,2
200	1,2	4,4	1,1	1,3	4,9
300	0,4	2,9	1,1	1,3	3,4
400	0,4	2,4	0,3	0,4	2,5
500	0,4	2,1	0,3	0,4	2,2

Na Figura 13 estão representados os pesos relativos de cada fonte de incerteza para cada concentração de padrão e a incerteza global em função da concentração da concentração de amoxicilina.

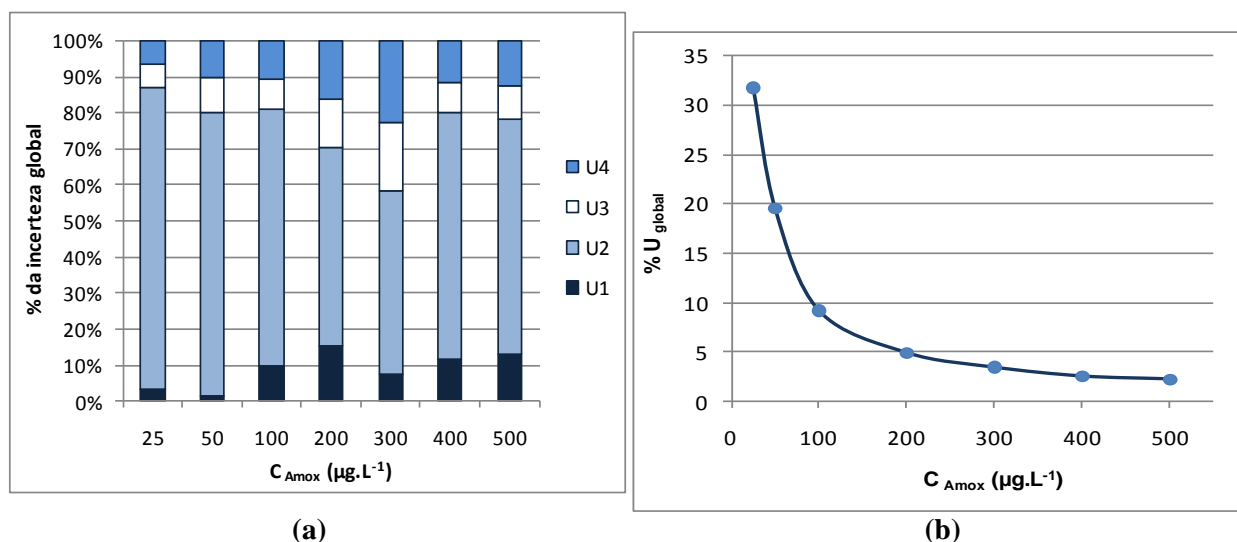


Figura 13 – Peso relativo de cada fonte individual de incerteza (a) e variação da incerteza global com o nível de concentração (b).

A contribuição relativa destas fontes é sem dúvida dependente da concentração do analito, sendo a incerteza associada à recta de calibração (U_2) a que contribui maioritariamente para a incerteza global do método. A preparação dos padrões (U_1) em qualquer um dos níveis de concentração contribuiu com menos de 15% para a incerteza global, enquanto a precisão (U_3) e da exactidão (U_4) tendem a influenciar de igual forma o resultado.

Da análise da representação gráfica apresentada na Figura 12 (b), verificou-se que a incerteza global mantém-se praticamente constante para a gama de concentrações mais elevadas, subindo exponencialmente para as concentrações mais baixas. De facto, qualquer resultado nesta zona de concentrações virá afectado de uma incerteza elevada.

Foi efectuada uma pesquisa bibliográfica referente a valores de incertezas globais associadas a determinações de amoxicilina por HPLC, não se tendo porém encontrado trabalhos que fizessem esta avaliação.

4.3 Adsorção em *batch*

Tal como foi mencionado anteriormente, os processos de sorção incluem sistemas descontínuos - *batch*, ou sistemas contínuos de leito fixo, normalmente designados por processos de sorção em coluna.

O primeiro caso é geralmente aplicado quando o efluente a tratar tem níveis de contaminante relativamente baixos ou quando a sua utilização é apenas sazonal [37]. Embora, a nível industrial sejam os processos contínuos os mais relevantes, as experiências em *batch* permitem determinar os parâmetros cinéticos e de equilíbrio do processo de sorção.

Relativamente à adsorção de amoxicilina em casca carbonizada de amêndoa, já existiam resultados no grupo de investigação (LEPAE) sobre o processo em *batch*. Na Tabela 14 encontram-se resumidos os resultados obtidos [40].

Tabela 14 – Resumo dos resultados obtidos através de experiências em batch de adsorção de amoxicilina em casca de amêndoa carbonizada ($T=20\text{ }^{\circ}\text{C}$, $C_0=400\text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$, $d_p=600\text{ }\mu\text{m}$) [31].

Cinética	Equilíbrio	Termodinâmica
<i>Pseudo - segunda ordem</i>	<i>Isotérmica de Langmuir</i>	$\Delta G = -92,9\text{ kJ.mol}^{-1}$
$q_e = 0,155 \pm 0,005\text{ mg.g}^{-1}$	$q_{\text{máximo}} = 3,6 \pm 0,3\text{ mg.g}^{-1}$	$\Delta H = -6,7\text{ kJ.mol}^{-1}$
$k = 0,31 \pm 0,05\text{ g.(mg.min)}^{-1}$	$K_L = 2,0 \pm 0,5\text{ L.mg}^{-1}$	$\Delta S = 47,6\text{ J.(mol.K)}^{-1}$

Estes resultados são úteis na modelização do processo, mas no entanto não permitem obter a informação exacta necessária ao *scale-up* (p. ex., no processo contínuo o soluto não está em equilíbrio, a força motriz mantém-se constante ao longo do tempo, etc.). Surge assim, a necessidade de efectuar ensaios de coluna a nível laboratorial de modo a definir modelos para o dimensionamento de sistemas contínuos.

4.4 Adsorção em coluna de leito fixo

Efeito da concentração da solução de alimentação na adsorção da amoxicilina

Com o objectivo de estudar o efeito da concentração da solução de alimentação na adsorção de amoxicilina, realizaram-se 3 ensaios, mantendo a altura do leito ($L = 4\text{ cm}$) e o caudal constante ($Q = 12\text{ mL.min}^{-1}$) e usando diferentes concentrações de amoxicilina ($C_0 = 0,25, 1\text{ e }10\text{ mg.L}^{-1}$). Calcularam-se os parâmetros relacionados com a adsorção em leito fixo, conforme descrito no Anexo 1. Os resultados relativos ao efeito da concentração da amoxicilina no efluente de alimentação sobre as curvas de *breakthrough* são apresentados na Figura 14 e na Tabela 15.

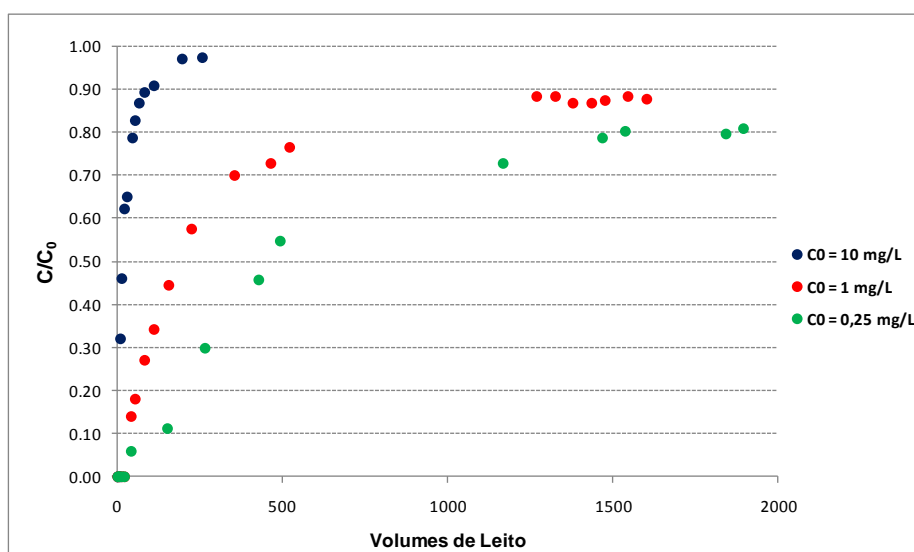


Figura 14 – Curvas de breakthrough para diferentes concentrações de amoxicilina na solução de alimentação ($L = 4\text{ cm}$ e $Q = 12\text{ mL.min}^{-1}$).

Tabela 15 – Adsorção da amoxicilina em casca de amêndoa carbonizada a diferentes concentrações de alimentação ($L = 4 \text{ cm}$ e $Q = 12 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$).

C_0 ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	t_b (min)	V_b (mL)	t_e (min)	q_{tot} (mg)	Remoção (%)	EBRT (min)	q_{eq} ($\text{mg}\cdot\text{g}_{ads}^{-1}$)
0,25	68,30	820	2713*	2,92*	40,9*	1,05	0,40*
1	9,53	114	1380*	11,44*	73,2*	1,05	1,58*
10	0,13	2	121	11,44	73,9	1,05	1,58

* Não ocorreu a saturação do leito

Conforme a Tabela 15 verificou-se uma diminuição do tempo de *breakthrough* (neste caso definido como sendo igual ao limite de quantificação do método analítico, $C = 0,029 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) e do tempo de exaustão do adsorvente (correspondente ao tempo para qual $C = 0,95C_0$) com o aumento da concentração. Consequentemente também o volume de efluente tratado até ao momento de *breakthrough* ($V_b = Qt_b$) diminuiu com o aumento da concentração da amoxicilina à entrada.

A Figura 14 permite verificar que para a concentração mais baixa de amoxicilina ($C = 0,25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) o aumento da concentração adimensional (C/C_0) ocorreu mais lentamente, apresentando a sua curva de ruptura, um declive menos acentuado do que para as outras concentrações. Para esta concentração o tempo necessário para atingir o *breakthrough* e o volume de efluente tratado até esse ponto foram muito maiores do que para as outras concentrações de entrada. No extremo oposto, para concentrações de $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, a curva de ruptura apresentou um declive quase vertical e verificou-se a existência de amoxicilina à saída do leito, praticamente desde o início da experiência. Deste modo apenas puderam ser tratados 2 mL de efluente, sem que fosse ultrapassado o limite de *breakthrough*.

Quando se compara a quantidade total de amoxicilina adsorvida pelo leito, constata-se que para o mesmo tempo de operação, a quantidade total retida é muito inferior para concentrações baixas do que para concentrações mais altas. Logo, a remoção percentual também é muito menor. À medida que se aumenta a concentração de amoxicilina (até $C = 1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), a capacidade máxima de adsorção do leito, q_{eq} , também aumenta. Este facto explica o aumento da quantidade total de amoxicilina adsorvida pelo leito, q_{tot} , referido anteriormente. A partir dessa concentração não se verifica mais aumentos da quantidade adsorvida, significando que o adsorvente atingiu a sua capacidade máxima de adsorção.

Como é possível observar na Figura 14, apenas a curva com a concentração mais alta de amoxicilina, obteve concentrações à saída muito próximas da concentração de alimentação (ou seja $C/C_0 = 1$). Para todas as outras experiências as concentrações à saída situavam-se por volta de $C \approx 0,9C_0$, mesmo para as experiências que decorreram durante períodos longos. Actualmente desconhece-se a razão para esta situação, colocando-se algumas hipóteses: um aumento demasiado pequeno nas concentrações do efluente à saída da coluna levou a que a experiência fosse interrompida antes de se atingir efectivamente a saturação do leito ou instabilidade da amoxicilina ao longo dos ensaios. Esta pode ter sofrido alguma

espécie de degradação quando em contacto durante longos períodos de tempo com a casca de amêndoa carbonizada. Existem vários estudos que comprovam a tendência da amoxicilina sofrer hidrólise, ocorrendo a abertura do anel β -lactâmico [69]. De facto, durante a análise em HPLC de algumas amostras verificou-se a existência de picos que podem estar relacionados com esta degradação [62].

Os resultados obtidos demonstram que a concentração da amoxicilina à entrada afecta a taxa de remoção e o tempo de *breakthrough* e de saturação. Isto pode ser explicado pelos diferentes gradientes de concentração existentes entre a superfície do leito e o fluido. Se por um lado maiores gradientes de concentração resultam numa maior *driving force*, favorecendo a adsorção, por outro lado a existência de uma maior quantidade de soluto (por unidade de volume) resulta numa saturação mais rápida do adsorvente. Em consequência disso, a quantidade retida pelo adsorvente, q_{tot} , é também maior para a concentrações mais altas.

Efeito da altura do leito de adsorvente na adsorção da amoxicilina

O efeito da altura de leito sobre a adsorção da amoxicilina foi estudado utilizando 3 colunas com diferentes alturas de leito de casca de amêndoa carbonizada ($L = 2, 4$ e 6 cm). A concentração de alimentação de amoxicilina ($C_0 = 1 \text{ mg.L}^{-1}$), bem como o caudal ($Q = 12 \text{ mL.min}^{-1}$) foram mantidos constantes. Os resultados obtidos destes ensaios são apresentados na Figura 15 e na Tabela 16.

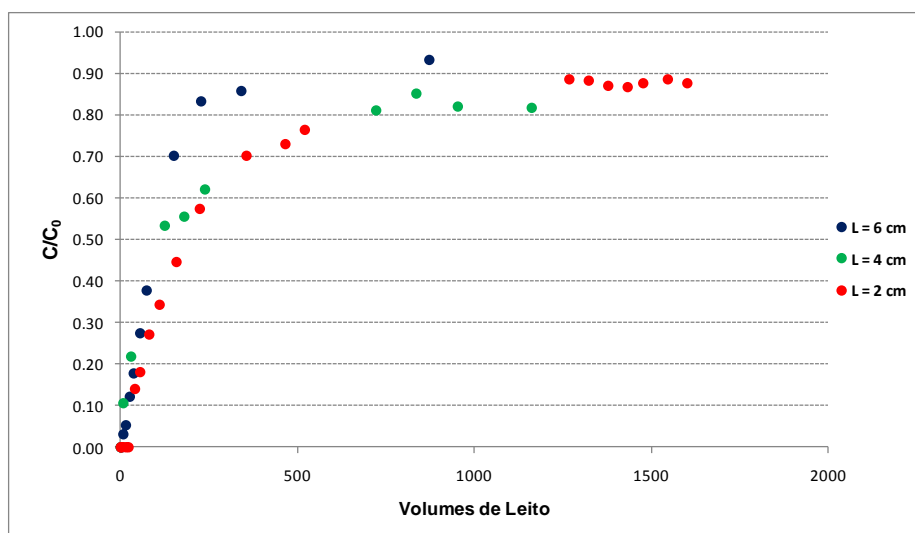


Figura 15 – Curvas de breakthrough para diferentes alturas de leito de casca de amêndoa carbonizado ($C_0 = 1 \text{ mg.L}^{-1}$ e $Q = 12 \text{ mL.min}^{-1}$).

Tabela 16 – Adsorção da amoxicilina em casca de amêndoa carbonizada a diferentes alturas de leito de adsorvente ($C_0 = 1 \text{ mg.L}^{-1}$ e $Q = 12 \text{ mL.min}^{-1}$).

L (cm)	t_b (min)	V_b (mL)	t_e (min)	q_{tot} (mg)	Remoção (%)	EBRT (min)	q_{eq} (mg.g _{ads.} ⁻¹)
2	0,55	7	610*	8,81*	70,0*	0,51*	2,43*
4	9,53	114	1380*	11,44*	73,2*	1,05*	1,58*
6	10,95	131	1735*	14,32*	76,3*	1,57*	1,34*

* Não ocorreu a saturação do leito

Como se pode verificar na Tabela 16, um aumento da altura do leito teve como consequência um aumento do tempo necessário para atingir o *breakthrough*, bem como do respectivo volume de efluente tratado. Em analogia, o tempo de exaustão também aumentou com a altura do leito. Isto deveu-se, por uma lado à maior superfície disponível para adsorção, mas também a uma maior tempo de contacto entre a amoxicilina e a casca de amêndoa, o que pode ser verificado pelo tempo necessário para o efluente encher a coluna (EBRT). Como consequência disso, a quantidade total adsorvida no leito foi maior para o leito mais alto.

Como é possível observar na Figura 15, também aqui não foi atingida em nenhuma experiência uma concentração adimensional de 1, o que poderá ser explicado pelas razões acima mencionadas.

Efeito do caudal da solução de alimentação na adsorção da amoxicilina

O efeito do caudal da solução de alimentação foi obtido, efectuando-se 2 ensaios com caudais de alimentação diferentes ($Q = 6$ e 12 mL.min^{-1}). Os resultados encontram-se descritos na Figura 16 e na Tabela 17.

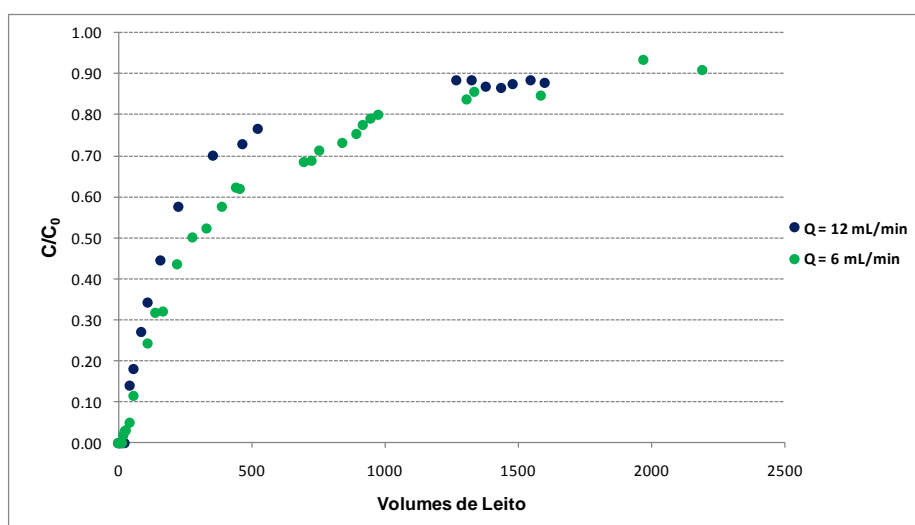

Figura 16 – Curvas de breakthrough para diferentes caudais de solução de alimentação de amoxicilina ($L = 4 \text{ cm}$ e $C_0 = 1 \text{ mg.L}^{-1}$).

Tabela 17 – Adsorção da amoxicilina em casca de amêndoa carbonizada a diferentes caudais de alimentação ($L = 4 \text{ cm}$ e $C_0 = 1 \text{ mg.L}^{-1}$).

Q (mL.min^{-1})	t_b (min)	V_b (mL)	t_e (min)	q_{tot} (mg)	Remoção (%)	EBRT (min)	q_{eq} ($\text{mg.g}_{\text{ads}}^{-1}$)
6	35,00	210	4674*	32,41*	76,7*	2,09*	4,78*
12	9,53	114	1735*	11,44*	73,2*	1,05*	1,58*

* Não ocorreu a saturação do leito

A Tabela 17 mostra que uma diminuição do caudal provocou um aumento do tempo de *breakthrough*, do volume de efluente tratado e da quantidade de amoxicilina adsorvida no leito. Também a eficiência de remoção, expressa através da razão entre a quantidade de amoxicilina introduzida e quantidade retida pelo material adsorvente, aumentou ligeiramente. Isto é possível explicar por uma velocidade intersticial menor, logo um maior tempo de contacto, pelo que haverá maior probabilidade de moléculas de soluto ficarem adsorvidas. Pode-se então afirmar que uma diminuição do caudal provoca um aumento do tempo de *breakthrough*, bem como da quantidade total de amoxicilina retida.

Modelo de Bohart-Adams

Tratando-se de um modelo não linear, optou-se por determinar os parâmetros através de uma regressão não linear em vez de linearizar as respectivas equações. Para esse efeito foi utilizado o “*Solver*” para obter as estimativas iniciais e de seguida o programa “*Fig.P*” que, para além de permitir obter os parâmetros por regressão não linear, também permitiu calcular os erros associados a estes.

Os parâmetros obtidos para a modelo de Bohart-Adams aplicados às curvas de *breakthrough* experimentais encontram-se resumidos na Tabela 18. Como é possível verificar através da Figura 17, o modelo de Bohart-Adams não permite obter previsões satisfatórias do comportamento das curvas de *breakthrough*. Especialmente para concentrações relativas baixas ($C/C_0 < 0,15$, para qual este modelo geralmente é aplicado) não se verifica uma concordância entre os valores experimentais e os valores teóricos. Em todas experiências são previstas no instante $t = 0$ concentrações teóricas à saída superiores à concentração de *breakthrough* definida ($C = 0,2 \text{ mg.L}^{-1}$). Ora isso não se verificou experimentalmente, pelo que, nestas condições, este modelo não é apropriado para a estimativa de pontos de *breakthrough*. Sendo assim, os parâmetros obtidos devem ser encarados com alguma reserva, uma vez que não descrevem correctamente a situação real.

Tendo em conta os erros associados à capacidade de adsorção do adsorvente, N_0 , pode-se afirmar que um aumento da concentração do analito não resulta numa alteração significativa da capacidade de adsorção. O mesmo acontece para variações na altura do leito, com excepção do leito com maior altura ($L = 6 \text{ cm}$), em que a capacidade de adsorção diminuiu. Isto pode estar relacionado com o facto do

modelo de Bohart-Adams não ter em conta efeitos de dispersão axial. No entanto, este fenómeno terá maior importância, quanto maior for a altura do leito.

Tabela 18 – Parâmetros determinados do modelo Bohart-Adams.

C_0 (mg.L^{-1})	Q (mL.min^{-1})	L (cm)	N_0 (mg.L^{-1})	k ($\text{L.}(\text{mg.h})^{-1}$)	R^2
0,25	12	4	263 ± 32	$0,45 \pm 0,08$	0,884
1	12	4	314 ± 36	$0,39 \pm 0,07$	0,943
10	12	4	246 ± 28	$0,5 \pm 0,1$	0,931
1	12	2	300 ± 59	$0,9 \pm 0,5$	0,896
1	12	4	314 ± 36	$0,39 \pm 0,07$	0,943
1	12	6	133 ± 13	$0,7 \pm 0,1$	0,972
1	6	4	638 ± 45	$0,09 \pm 0,01$	0,905
1	12	4	314 ± 36	$0,39 \pm 0,07$	0,943

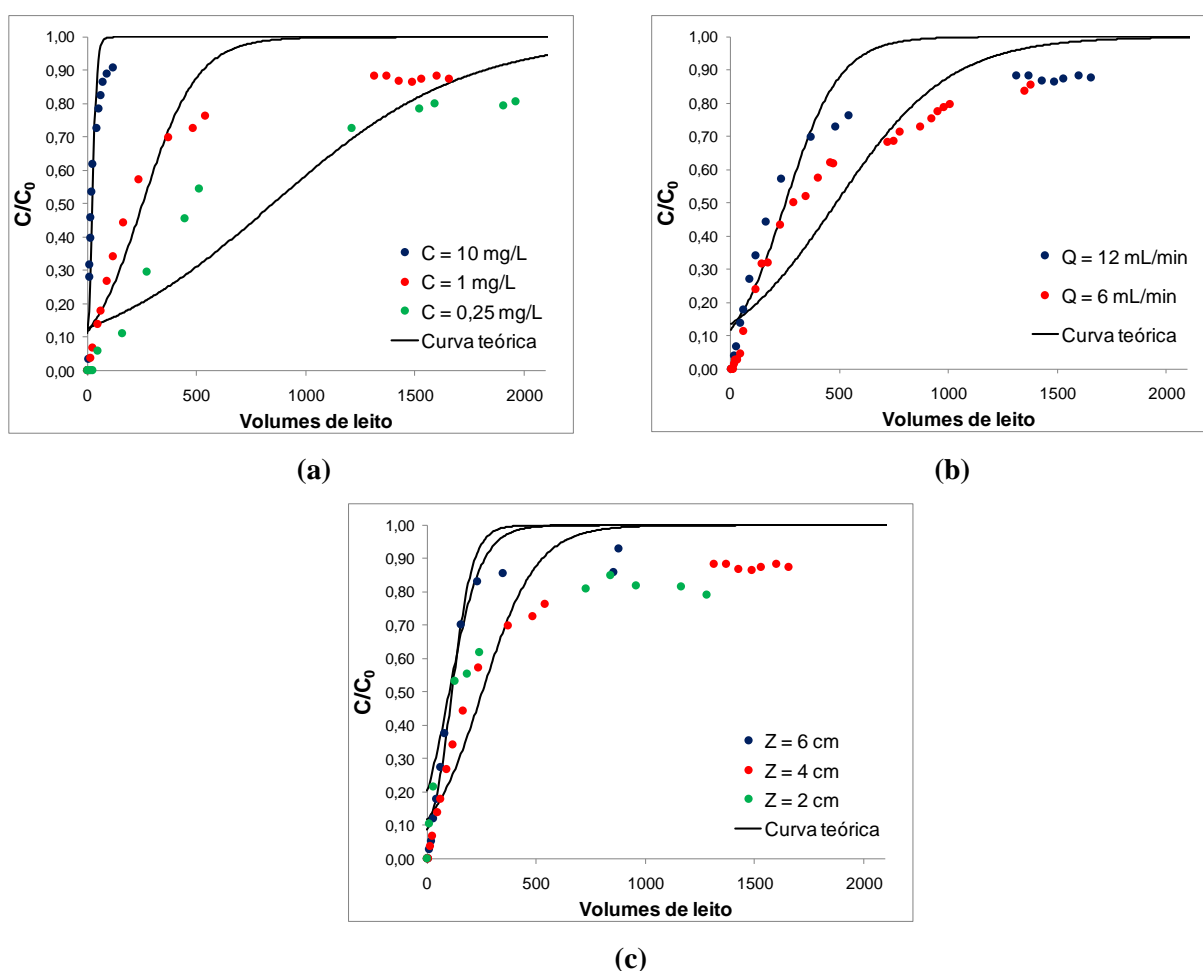


Figura 17 – Curvas de *breakthrough* experimentais (pontos) para a adsorção de amoxicilina em leito fixo com casca de amêndoa carbonizada e curvas teóricas (linhas) usando o modelo Bohart-Adams. **(a)** Ensaio a diferentes concentrações: $Q = 12 \text{ mL.min}^{-1}$ e $L = 4 \text{ cm}$. **(b)** Ensaio a diferentes caudais: $L = 4 \text{ cm}$ e $C_0 = 1 \text{ mg.L}^{-1}$. **(c)** Ensaio a diferentes alturas de leito: $Q = 12 \text{ mL.min}^{-1}$ e $C_0 = 1 \text{ mg.L}^{-1}$.

Modelo de BDST

Sendo um modelo obtido a partir do modelo de Bohart-Adams [45], também este foi incapaz de fornecer previsões satisfatórias do comportamento da coluna de adsorção, conforme indica a Figura 18. Os parâmetros obtidos (também por regressão não linear), descritos na Tabela 19, são semelhantes aos obtidos pelo modelo de Bohart-Adams e apresentam o mesmo comportamento. Alterações na concentração da solução à entrada não resultam em variações significativas na capacidade de adsorção do adsorvente. Também aqui verificou-se um valor de N_0 anormalmente baixo para o leito de maior altura, o que novamente deve estar relacionado com o facto de também este modelo desprezar efeitos de dispersivos e resistências à difusão intraparticular.

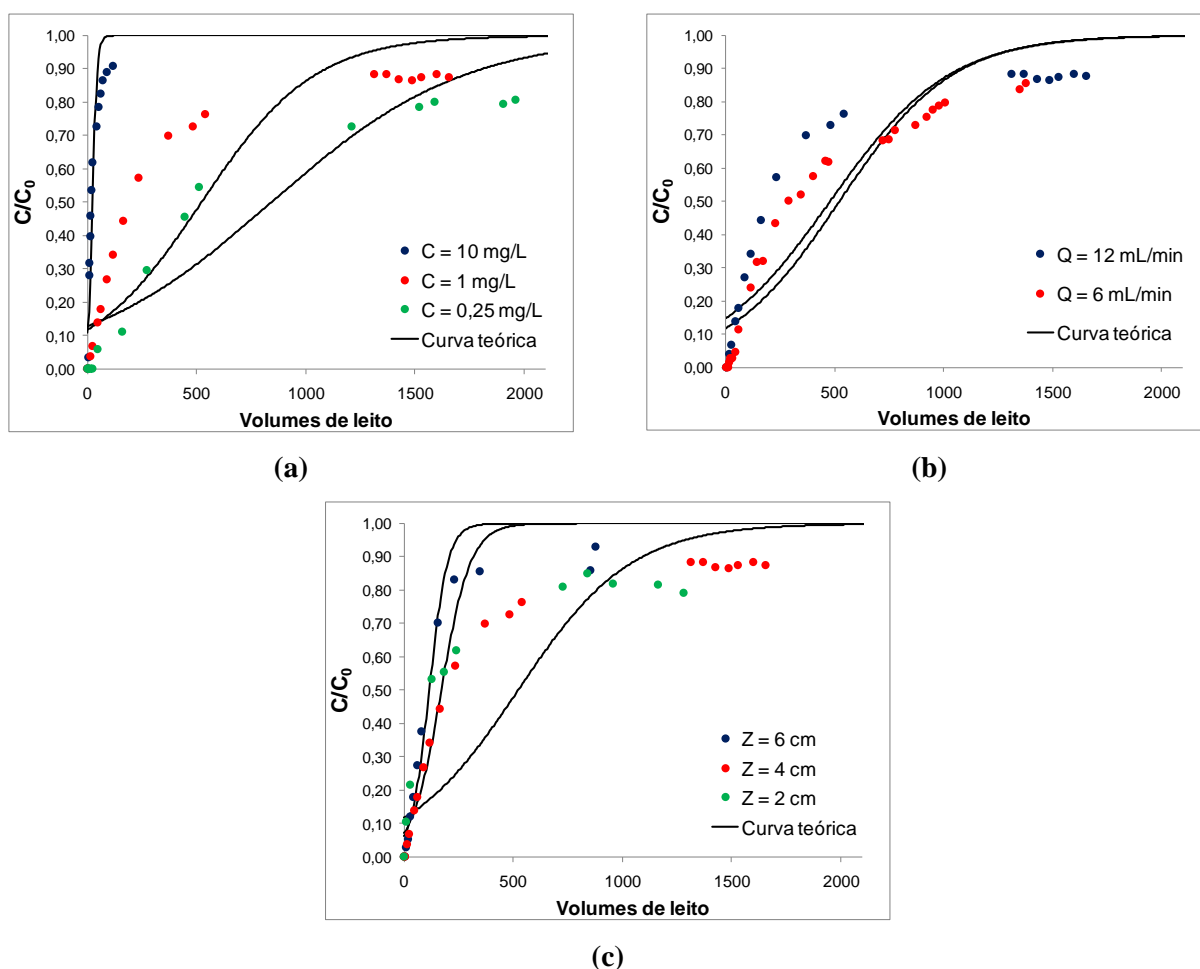


Figura 18 – Curvas de *breakthrough* experimentais (pontos) para a adsorção de amoxicilina em leito fixo de casca de amêndoa carbonizada e curvas teóricas (linhas) usando o modelo de BDST. **(a)** Ensaio a diferentes concentrações: $Q = 12 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ e $L = 4 \text{ cm}$. **(b)** Ensaio a diferentes caudais: $L = 4 \text{ cm}$ e $C_0 = 1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. **(c)** Ensaio a diferentes alturas de leito: $Q = 12 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ e $C_0 = 1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$.

Tabela 19 – Parâmetros determinados do modelo BDST.

C_0 ($mg.L^{-1}$)	Q ($mL.min^{-1}$)	L (cm)	N_0 ($mg.L^{-1}$)	k ($L.(mg.h)^{-1}$)	R^2
0,25	12	4	244 ± 32	$0,45 \pm 0,08$	0,884
1	12	4	296 ± 34	$0,39 \pm 0,07$	0,943
10	12	4	240 ± 27	$0,5 \pm 0,1$	0,931
1	12	2	292 ± 59	$1,0 \pm 0,5$	0,896
1	12	4	296 ± 34	$0,39 \pm 0,07$	0,943
1	12	6	130 ± 13	$0,8 \pm 0,1$	0,972
1	6	4	585 ± 44	$0,09 \pm 0,01$	0,905
1	12	4	296 ± 34	$0,39 \pm 0,07$	0,943

Modelo de Thomas

O modelo de Thomas apresentou resultados também divergentes em relação aos obtidos experimentalmente, como se apresenta na Figura 19. Este modelo assenta no pressuposto que não ocorre dispersão axial. No entanto, para o leito mais alto ($L = 6\text{ cm}$) este modelo previu uma concentração máxima de soluto na fase sólida, q_0 , mais alta do que para as restantes alturas de leito, cuja concentração máxima se mantém praticamente constante, $q_0 = 0,5\text{ mg.g}^{-1}$. Aumentando o caudal de entrada, o modelo de Thomas previu uma diminuição na concentração máxima deste soluto na casca de amêndoa. Este facto estará relacionado com a diminuição do tempo de contacto entre o efluente e a fase sólida.

Tabela 20 – Parâmetros determinados pelo modelo de Thomas.

C_0 ($mg.L^{-1}$)	Q ($mL.min^{-1}$)	L (cm)	q_0 ($mg.g^{-1}$)	k_{Th} ($L.(mg.h)^{-1}$)	R^2
0,25	12	4	$0,42 \pm 0,06$	$0,45 \pm 0,08$	0,884
1	12	4	$0,51 \pm 0,06$	$0,39 \pm 0,07$	0,943
10	12	4	$0,42 \pm 0,05$	$0,5 \pm 0,1$	0,931
1	12	2	$0,5 \pm 0,1$	$1,0 \pm 0,5$	0,896
1	12	4	$0,51 \pm 0,06$	$0,39 \pm 0,07$	0,943
1	12	6	$0,8 \pm 0,1$	$0,22 \pm 0,02$	0,974
1	6	4	$1,09 \pm 0,08$	$0,09 \pm 0,01$	0,905
1	12	4	$0,51 \pm 0,06$	$0,39 \pm 0,07$	0,943

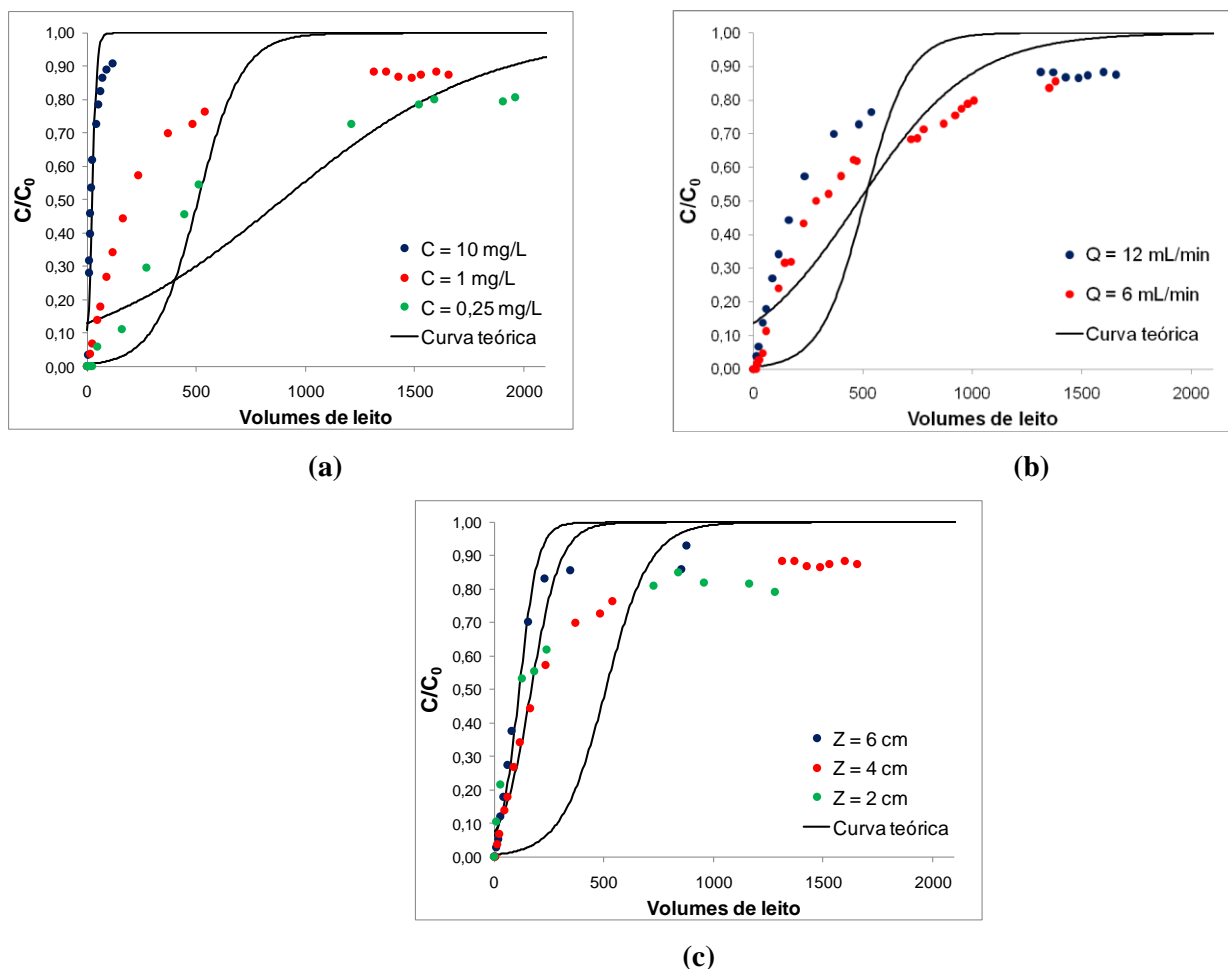


Figura 19 – Curvas de *breakthrough* experimentais (pontos) para a adsorção de amoxicilina em leito fixo de casca de amêndoa carbonizada e curvas teóricas (linhas) usando o modelo de Thomas. **(a)** Ensaaios a diferentes concentrações: $Q = 12 \text{ mL.min}^{-1}$ e $L = 4 \text{ cm}$. **(b)** Ensaaios a diferentes caudais: $L = 4 \text{ cm}$ e $C_0 = 1 \text{ mg.L}^{-1}$. **(c)** Ensaaios a diferentes alturas de leito: $Q = 12 \text{ mL.min}^{-1}$ e $C_0 = 1 \text{ mg.L}^{-1}$.

Modelo de Yoon-Nelson

Embora o modelo de Yoon-Nelson tenha inicialmente sido desenvolvido para a adsorção de gás em carvão, este também tem sido aplicado com sucesso a outros sistemas. Neste caso o modelo não foi capaz de prever de uma forma quantitativa o comportamento deste sistema. Embora os parâmetros sejam diferentes, o modelo de Yoon-Nelson, forneceu neste caso resultados muito semelhantes aos obtidos pelo modelo de Thomas, conforme ilustra a Figura 20. Segundo a Tabela 21, para a concentração mais baixa de amoxicilina à entrada, o tempo em que $C/C_0 = 0,5$ ocorreu muito mais cedo do que para as restantes concentrações. Ora isto contraria o pressuposto do modelo, que assume que a probabilidade de adsorção é inversamente proporcional à cobertura da superfície. Para concentrações mais baixas a quantidade de soluto (por unidade de volume) é menor, logo a cobertura da superfície será também menor, pelo que seria de esperar um aumento de $t_{0,5}$, o que no entanto não aconteceu.

Este modelo também assume que a probabilidade de adsorção de uma molécula de soluto é inversamente proporcional à probabilidade de *breakthrough*, ou seja a probabilidade da molécula atravessar a coluna sem ser adsorvida. Isto comprovou-se para um aumento do leito de $L = 2$ cm para $L = 4$ cm, uma vez que $t_{0,5}$ aumentou. Porém, quando o leito foi aumentado para 6 cm, esta tendência inverteu-se. Este facto contraria os pressupostos do modelo, não se tendo encontrado uma explicação plausível para o sucedido.

Já para um aumento de caudal, verificou-se uma diminuição de $t_{0,5}$ tal como seria esperado.

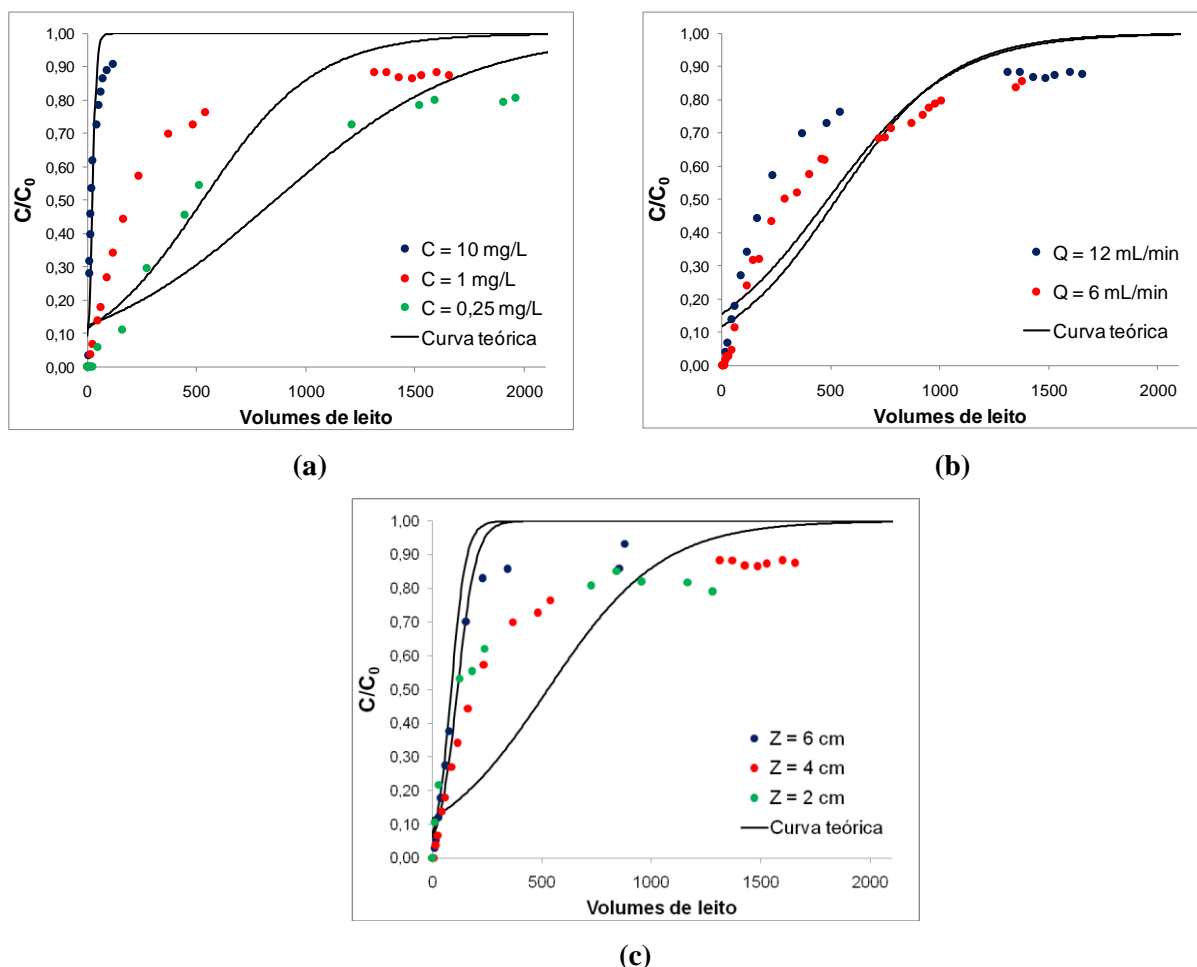


Figura 20 – Curvas de *breakthrough* experimentais (pontos) para a adsorção de amoxicilina em leito fixo de casca de amêndoa carbonizada e curvas teóricas (linhas) usando o modelo de Yoon-Nelson. **(a)** Ensaio a diferentes concentrações: $Q = 12$ mL.min⁻¹ e $L = 4$ cm. **(b)** Ensaio a diferentes caudais: $L = 4$ cm e $C_0 = 1$ mg.L⁻¹. **(c)** Ensaio a diferentes alturas de leito: $Q = 12$ mL.min⁻¹ e $C_0 = 1$ mg.L⁻¹.

Tabela 21 – Parâmetros determinados pelo modelo de Yoon-Nelson.

C_0 ($mg.L^{-1}$)	Q ($mL.min^{-1}$)	L (cm)	$t_{0,5}$ (h)	k_{YN} (h^{-1})	R^2
0,25	12	4	15 ± 2	$0,13 \pm 0,02$	0,884
1	12	4	$4,6 \pm 0,5$	$0,44 \pm 0,08$	0,943
10	12	4	$5,8 \pm 1,4$	$0,39 \pm 0,04$	0,979
1	12	2	$1,5 \pm 0,3$	$1,7 \pm 0,8$	0,990
1	12	4	$4,6 \pm 0,5$	$0,44 \pm 0,08$	0,943
1	12	6	$3,0 \pm 0,3$	$0,9 \pm 0,2$	0,972
1	6	4	17 ± 1	$0,10 \pm 0,01$	0,905
1	12	4	$4,6 \pm 0,5$	$0,44 \pm 0,08$	0,943

Modelo de Wolborska

O modelo de Wolborska foi incapaz de descrever as curvas de *breakthrough*. Este modelo assenta nos pressupostos de difusão, ignorando os efeitos de natureza química. Neste caso, e tendo em conta que a partir de ensaios em *batch* tinha sido determinada uma cinética de pseudo-segunda ordem, logo adsorção química, este modelo não se aplicaria. Este facto foi comprovado, conforme se verifica na Figura 21 e na Tabela 22.

Tabela 22 – Parâmetros determinados pelo modelo de Wolborska.

C_0 ($mg.L^{-1}$)	Q ($mL.min^{-1}$)	L (cm)	β (h^{-1})	N_0 ($mg.L^{-1}$)	R^2
0,25	12	4	97 ± 17	588 ± 45	0,766
1	12	4	72 ± 12	1863 ± 149	0,681
10	12	4	49 ± 11	1790 ± 270	0,513
1	12	2	91 ± 26	6636 ± 3048	0,198
1	12	4	72 ± 12	1863 ± 149	0,681
1	12	6	51 ± 12	1004 ± 158	0,519
1	6	4	31 ± 4	2693 ± 250	0,562
1	12	8	72 ± 12	1863 ± 149	0,681

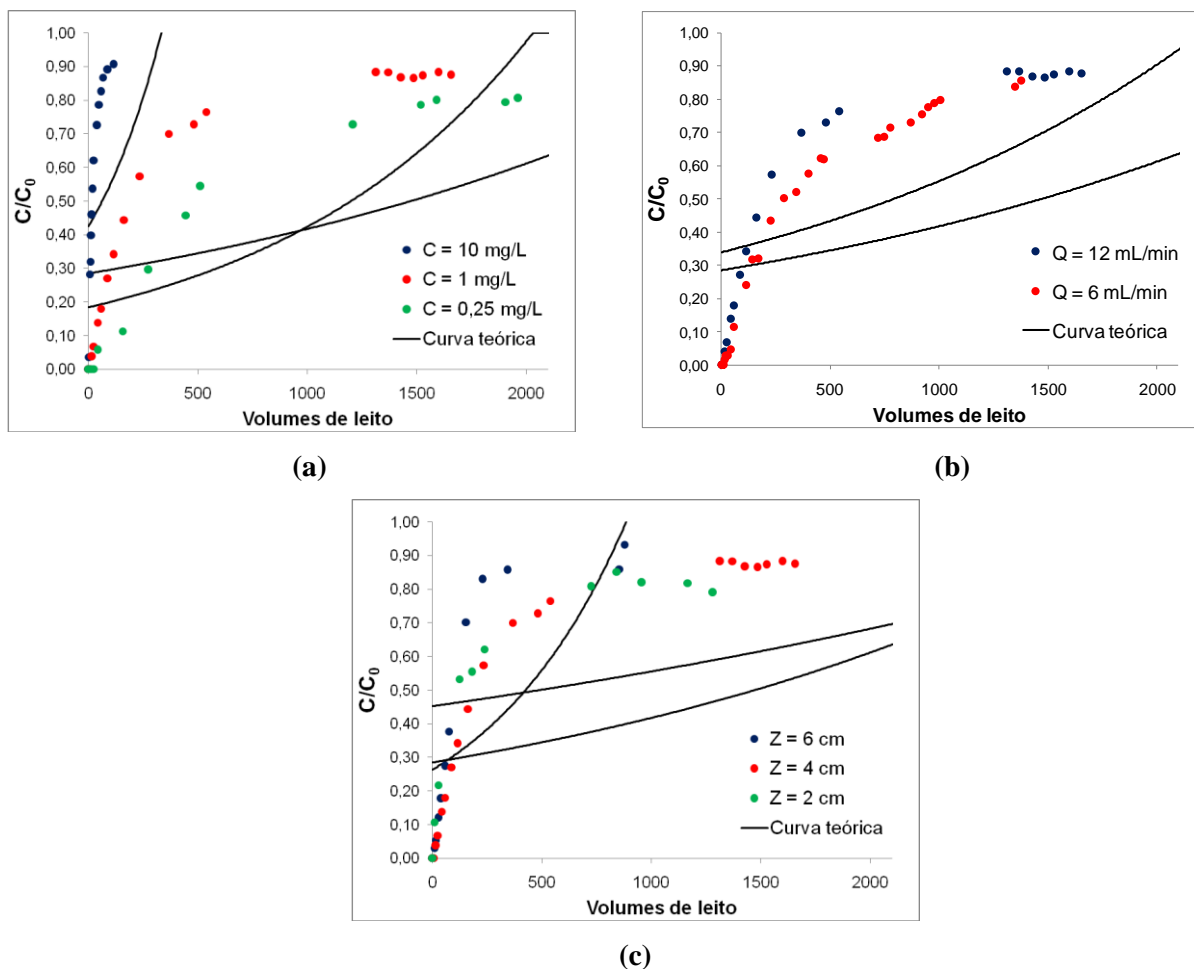


Figura 21 – Curvas de *breakthrough* experimentais (pontos) para a adsorção de amoxicilina em leito fixo de casca de amêndoa carbonizada e curvas teóricas (linhas) usando o modelo de Wolborska. **(a)** Ensaios a diferentes concentrações: $Q = 12 \text{ mL.min}^{-1}$ e $L = 4 \text{ cm}$. **(b)** Ensaios a diferentes caudais: $L = 4 \text{ cm}$ e $C_0 = 1 \text{ mg.L}^{-1}$. **(c)** Ensaios a diferentes alturas de leito: $Q = 12 \text{ mL.min}^{-1}$ e $C_0 = 1 \text{ mg.L}^{-1}$.

Modelos de Chu

Obtiveram-se os parâmetros dos vários modelos propostos por Chu (Anexo 1, equações 18 a 20) por regressão linear aplicada aos dados experimentais, conforme indica a Tabela 23. Também se representou graficamente a curva teórica prevista pela equação 18 (Figura 22).

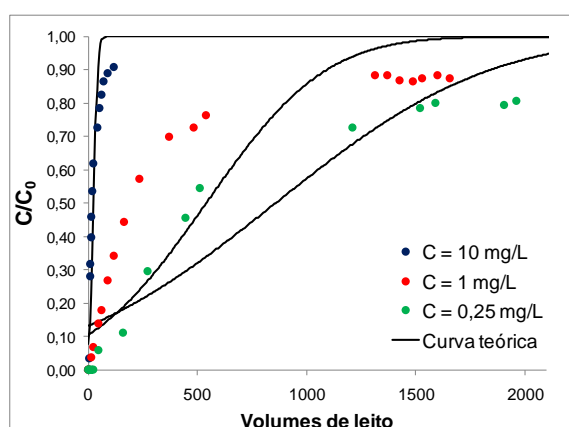
Estes modelos também não conseguiram descrever correctamente o comportamento da adsorção da amoxicilina em leito fixo. De acordo com os modelos, logo desde o momento $t = 0 \text{ min}$ ocorre a saída de amoxicilina no efluente da coluna o que não corresponde à realidade experimental. O modelo descrito pela equação 18, pressupõe uma curva de *breakthrough* simétrica, o que não se verifica nos dados experimentais.

O tipo de mecanismo que controla o processo de adsorção pode ser inferido através da relação entre o desvio padrão (como medida do declive da curva de *breakthrough*), σ . Como não existe uma relação de proporcionalidade entre σ e $1/L$, o mecanismo controlante não é de equilíbrio (Tabela 24). Como existe uma relação proporcional entre a velocidade superficial (neste caso o caudal, já que a área é para

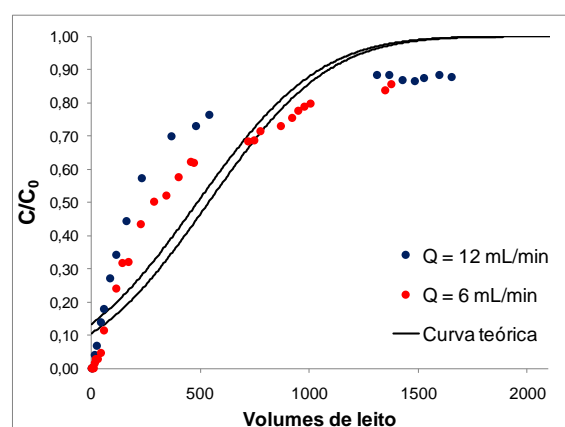
todas experiências igual), pode-se induzir a ocorrência de mecanismo de cinética química, dispersão e também difusão. Isto explicaria a razão pelo qual os outros modelos foram incapazes de descrever correctamente as curvas de *breakthrough*.

Tabela 23 – Parâmetros determinados pelos modelos de Chu.

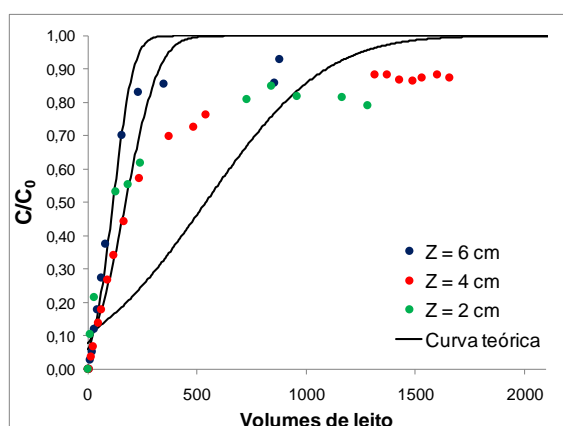
C_0 (mg.L ⁻¹)	Q (mL.min ⁻¹)	Z (cm)	Chu (Eq 18)			Chu (Eq 19)			Chu (Eq 20)		
			t_0 (h)	σ	R^2	t_0 (h)	σ	R^2	t_0 (h)	σ	R^2
0,25	12	4	15 ± 2	0,9 ± 0,1	0,884	8,3 ± 0,7	0,6 ± 0,2	0,964	8,3 ± 0,3	0,51 ± 0,01	0,993
1	12	4	4,7 ± 0,5	0,8 ± 0,1	0,943	3,6 ± 0,4	0,7 ± 0,2	0,933	4,1 ± 0,4	0,41 ± 0,02	0,947
10	12	4	0,40 ± 0,05	0,7 ± 0,2	0,928	0,41 ± 0,03	0,7 ± 0,3	0,902	0,39 ± 0,04	0,36 ± 0,03	0,907
1	12	2	1,5 ± 0,2	0,7 ± 0,3	0,899	5,2 ± 0,9	1,3 ± 0,8	0,576	1,5 ± 0,1	0,43 ± 0,03	0,922
1	12	4	4,7 ± 0,5	0,8 ± 0,1	0,943	3,6 ± 0,4	0,7 ± 0,2	0,933	4,1 ± 0,4	0,41 ± 0,02	0,947
1	12	6	3,0 ± 0,3	0,6 ± 0,1	0,974	3,3 ± 0,3	0,7 ± 0,2	0,944	2,9 ± 0,2	0,38 ± 0,02	0,966
1	6	4	17 ± 1	0,9 ± 0,1	0,904	13,6 ± 0,9	0,8 ± 0,2	0,882	14 ± 1	0,47 ± 0,02	0,917
1	12	4	4,7 ± 0,5	0,8 ± 0,1	0,943	3,6 ± 0,4	0,7 ± 0,2	0,933	4,1 ± 0,4	0,41 ± 0,02	0,947



(a)



(b)



(c)

Figura 22 – Curvas de *breakthrough* experimentais (pontos) para a adsorção de amoxicilina em leito fixo de casca de amêndoa carbonizada e curvas teóricas (linhas) usando o modelo de Chu (eq.18). (a) Ensaaios a diferentes concentrações: $Q = 12 \text{ mL.min}^{-1}$ e $L = 4 \text{ cm}$. (b) Ensaaios a diferentes caudais: $L = 4 \text{ cm}$ e $C_0 = 1 \text{ mg.L}^{-1}$. (c) Ensaaios a diferentes alturas de leito: $Q = 12 \text{ mL.min}^{-1}$ e $C_0 = 1 \text{ mg.L}^{-1}$

5 Conclusões

Neste trabalho estudou-se a adsorção da amoxicilina em casca de amêndoa carbonizada em colunas de leito fixo. Através das curvas de *breakthrough* foi possível avaliar o efeito da concentração de amoxicilina à entrada da coluna, da altura do leito e o do caudal de alimentação sobre a adsorção deste composto.

Um aumento da concentração de amoxicilina provocou um aumento da capacidade máxima de adsorção do adsorvente até uma concentração de entrada de $C = 1 \text{ mg.L}^{-1}$, traduzindo-se numa maior quantidade total de adsorvente retido. O tempo de *breakthrough* ocorreu mais cedo para concentrações mais altas, devido à maior quantidade de soluto introduzida. Para concentrações de entrada superiores a 1 mg.L^{-1} não se verificou aumentos da quantidade adsorvida, indicando que a capacidade máxima de adsorção do leito foi atingida. Os leitos de adsorvente mais altos, apresentaram uma maior quantidade total de amoxicilina adsorvida, porém a capacidade máxima de adsorção diminuiu. O tempo de *breakthrough* aumentou com o aumento da altura do leito, não sendo essa relação proporcional.

No estudo dos efeitos do caudal sobre a adsorção concluiu-se que um aumento do caudal, tem como consequência a diminuição do tempo de *breakthrough*, da capacidade máxima de adsorção do leito e da quantidade total de amoxicilina adsorvida.

Com excepção da experiência com concentração de amoxicilina de 10 mg.L^{-1} , nenhuma curva de *breakthrough* conseguiu atingir uma concentração relativa de $C/C_0 = 1$. As razões apontadas são o tempo insuficiente para atingir saturação ou a degradação da amoxicilina. Foram detectados picos em HPLC que poderão estar relacionados com produtos de degradação deste composto.

Com o objectivo de prever curvas de *breakthrough* para este sistema soluto/adsorvente, aplicou-se os modelos de Bohart-Adams, BDST, Thomas, Wolborska e de Chu. Nenhum destes modelos foi capaz de descrever satisfatoriamente os resultados experimentais. O modelo de Wolborska não conseguiu descrever a tendência da curva, devido ao facto de ignorar a natureza química da adsorção da amoxicilina. Os restantes modelos apontavam tempo de *breakthrough* para tempos nulos, não correspondendo ao que se verificou experimentalmente.

6 Avaliação do Trabalho Realizado

6.1 Objectivos Realizados

Os objectivos delineados para este projecto de desenvolvimento foram cumpridos. Através de bibliografia foi possível comprovar a existência de antibióticos em todos meios. Preparou-se um adsorvente baseado em casca de amêndoa e efectuou-se com este, ensaios de adsorção em coluna de leito fixo. As amostras foram analisadas em HPLC-DAD com um método próprio.

6.2 Outros Trabalhos Realizados

Durante o desenvolvimento do método analítico, prestou-se apoio a um aluno de iniciação à investigação, nomeadamente na utilização de um equipamento de HPLC. Com o método desenvolvido para este trabalho foram efectuadas análises de amostras contendo amoxicilina a outros grupos de investigação do LEPAE.

6.3 Limitações e Trabalho Futuro

O tempo previsto para o projecto de desenvolvimento não permitiu efectuar mais ensaios de coluna, uma vez que estes são muito morosos. Neste momento, ainda estão a decorrer ensaios de adsorção com alturas de leito maiores aos apresentados anteriormente.

As razões de não ser possível atingir a saturação total da coluna, não puderam ser estudadas com maior profundidade. Sugere-se o estudo das causas exactas deste fenómeno, nomeadamente avaliar a existência de produtos de degradação. Também será de extremo interesse estudar o efeito da dispersão axial, eventualmente recorrendo a um *tracer* com propriedades físicas semelhantes à da amoxicilina.

Quanto à casca de amêndoa, entende-se haver potencial para uma optimização das condições de carbonização. Será também apropriado estudar o efeito do tamanho das partículas sobre a adsorção.

Os resultados das análises à composição da superfície do adsorvente por meio de XPS (*X-Ray Photoelectron Spectroscopy*) não chegaram a tempo para ser incluídos nesta tese.

6.4 Apreciação final

Entende-se que a presença de compostos farmacêuticos no meio ambiente é um problema grave e que necessita de ser abordado com a maior urgência. A adsorção, nomeadamente em resíduos agrícolas, parece constituir uma solução viável para a remoção deste poluente de matrizes aquosas.

A realização deste projecto permitiu entrar em contacto com uma unidade de investigação (LEPAE) de renome e verificar que um bom clima de trabalho é um elemento essencial para a obtenção de bons resultados.

Referências

1. Nasa World Book. http://www.nasa.gov/worldbook/earth_worldbook.html (acedido em Junho de 2009)
2. United Nation Enviroment Programme.
<http://www.unep.org/dewa/assessments/ecosystems/water/vitalwater/01.htm> (acedido em Junho de 2009).
3. The United Nations World Water Development Report 3 – Water in a changing World (Facts and figures).
http://www.unesco.org/water/wwap/wwdr/wwdr3/pdf/WWDR3_Facts_and_Figures.pdf (acedido em Junho de 2009).
4. Directiva 2000/60/CE do Parlamento Europeu
<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:32000L0060:PT:HTML> (acedido em Junho de 2009)
5. Watkinson, A.J., Murby, E.J., Kolpin, D.W., Costanzo, S.D., *The ocurrence of antibiotics in an urban watershed: From wastewater to drinking water*, Science of the total enviroment, **407**, 2711-2723 (2009)
6. Holm, J.V., Rügge, K., Bjerg, P.L., Christensen, T.H., *Occurrence and Distribution of Pharmaceutical Organic Compounds in the Groundwater Downgradient of a Landtill (Grindsted, Denmark)*, Enviromental Science & Technology, **29**, 1415-1420 (1995)
7. Hirsch, R., Ternes, T., Haberer, K., Kratz, K.L., *Occurrence of antibiotics in the aquatic environment*, The Science of the Total Environment, **225**, 109-118 (1999)
8. Kemper, N., Färber, H., Skutlarek, D., Krieter, J., *Analysis of antibiotic residues in liquid manure and leachate of dairy farms in Northern Germany*, Agricultural Water Management, **95**, 1288-1292 (2008)
9. Xu, W.H., Zhang, G., Zou, S.C., Li, X.D., Liu, Y.C, *Determination of selected antibiotics in the Victoria Harbour and the Pearl River, South China using high-performance liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry*, Enviromental Pollution, **145**, 672-679 (2007)
10. Musson, S.E., Townsend, T.G., *Pharmaceutical compound content of municipal solid waste*, Journal of Hazardous Materials, **162**, 730-735 (2009)
11. Sarmah, A.K., Meyer, M.T., Boxall, A.B.A., *A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (VAs) in the environment*, Chemosphere, **65**, 725-759 (2006)
12. Daughton, C.G., *Pharmaceuticals and Personal Care Products (PPCPs) as Environmental Pollutants: Pollution from Consumption and Use*. <http://www.epa.gov/osp/regions/emerpoll/daughton.ppt> (acedido em Junho de 2009)
13. Watkinson, A.J., Murby, E.J., Kolpin, D.W., Costanzo, S.D., *The ocurrence of antibiotics in an urban watershed: From wastewater to drinking water*, Science of the total enviroment, **407**, 2711-2723 (2009)
14. Seifrtová, M., Pena, A., Lino, C.M., Solich, P., *Determination of fluoroquinolone antibiotics in hospital and municipal wastewaters in Coimbra by liquid chromatography with a monolithic column and fluorescence detection*, Anal. Bioanal.Chem., **391**, 799-805 (2008)
15. Ferdig, M., Kaleta, A., Buchberger, W., *Improved liquid chromatographic determination of nine currently used (fluoro)quinolones with fluorescence and mass spectrometric detection for environmental samples*, Journal of Separation Science, **28**, 1448-1456 (2005)
16. Minh, T.B., Leung, H.W., Loi, I.H., Chan, W.H., So, M.K., Mao, J.Q., Choib, D., Lam,

- J.C.W., Zheng, G., Martin, M., Leeb, J.H.W., Lam, Richardson, B.J., *Antibiotics in the Hong Kong metropolitan area: Ubiquitous distribution and fate in Victoria Harbour*, Marine Pollution, **58**, 1052-1062 (2009)
17. McArdell, C., Molnar, E., Suter, M.J.F., Giger, W., *Occurrence and Fate of Macrolide Antibiotics in Wastewater Treatment Plants and in the Glatt Valley Watershed, Switzerland*, Environmental Science & Technology, **37**, 5479-5486 (2003)
18. Brown, K.D., Kulis, J., Thomson, B., Chapman, T.H., Mawhinney, D.B., *Occurrence of antibiotics in hospital, residential, and dairy effluent*, Science of the Total Environment, **366**, 772-783 (2006)
19. Smith, A.J., Balaam, J.L., Ward, A., *The development of a rapid screening technique to measure antibiotic activity in effluents and surface water samples*, Marine Pollution Bulletin, **54**, 1940-1946 (2007)
20. Ye, Z., Weinberg, H., *Occurrence of Antibiotics in Drinking Water*. http://www.keepantibioticsworking.com/new/resources_library.cfm?refID=37604 (acedido em Maio de 2009)
21. Pei, R., Kim, S.C., Carlosn, K.H., Pruden, A., *Effect of River Landscape on the sediment concentrations of antibiotics and corresponding antibiotic resistance genes (ARG)*, Water Research, **40**, 2427-2435 (2006)
22. Chung, H.H., Lee, J.B., Chung, Y.H., Lee, K.G., *Analysis of sulfonamide and quinolone antibiotic residues in Korean milk using microbial assays and high performance liquid chromatography*, Food Chemistry, **113**, 297-301 (2009)
23. Ortelli, D., Cognard, E., Jan, P. Edder, P., *Comprehensive fast multiresidue screening of 150 veterinary drugs in milk by ultra-performance liquid chromatography coupled to time of flight mass spectrometry*, Journal of Chromatography B (2009), doi:10.1016/j.jchromb.2009.03.006
24. Becker, M., Yittlau, E., Pety, M., *Residue analysis of 15 penicillins and cephalosporins in bovine muscle, kidney and milk by liquid chromatography–tandem mass spectrometry*, Analytica Chimica Acta, **520**, 19-32 (2004)
25. Kümmerer, K. (Ed.), *Pharmaceuticals in the Environment - Sources, Fate, Effects and Risks*, 3rd ed., Springer, Heidelberg, 2008, ISBN 978-3-540-74664-5
26. Regulamento n.º 2377/90
<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:31990R2377:PT:HTML> (acedido em Junho de 2009).
27. Regulamento n.º 542/2008
<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2008:157:0043:01:PT:HTML> (acedido em Junho de 2009).
28. Directiva 2004/27/CE do Parlamento Europeu
<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:32004L0027:PT:HTML> (acedido em Junho de 2009).
29. Decreto-lei n.º 176/2006
http://www.infarmed.pt/portal/page/portal/INFARMED/LEGISLACAO/LEGISLACAO_FARMACEUTICA_COMPILADA/TITULO_III/TITULO_III_CAPITULO_I/035-E_DL_176_2006_VF.pdf (acedido em Junho de 2009).
30. Directiva 98/83/CE do Parlamento Europeu
<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:31998L0083:PT:HTML> (acedido em Junho de 2009).

31. European surveillance of antimicrobial consumption. http://app.esac.ua.ac.be/public/index.php/pt_pt (acedido em Maio de 2009)
32. Infarmed, *Estatística do medicamento – 2004*
33. Infarmed, *Estatística do medicamento – 2005*
34. Infarmed, *Estatística do medicamento – 2006*
35. Infarmed, *Estatística do medicamento – 2007*
36. Amoxicillin and Clavulanate. <http://www.usp.org/pdf/EN/veterinary/amoxicillinAndClavulanate.pdf> (acedido em Maio de 2009)
37. Brás, Isabel. 2005. *Utilização de casca de pinheiro como adsorvente para remoção de pentaclorofenol de águas contaminadas*. PhD. Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto
38. Kundu, S., Kavalakatt, S., Pal, A., Ghosh, S., Mandal, M., Pal, T., *Removal of Arsenic Using Hardened Paste of Portland Cement: Batch Adsorption and Column Study*, Water Research, **38**, 3780-3790, 2004
39. Wankat, P., *Rate-Controlled Separations*, Blackie Academic & Professional, 1994
40. Homem, V., Alves, A., Santos, L., *Amoxicillin removal from aqueous matrices by sorption with almond shell ashes*, International Journal of Environmental Analytical Chemistry (artigo aceite).
41. Aksu, Z., Göen, F., *Biosorption of phenol by immobilized activated sludge in a continuous packed bed: prediction of breakthrough curves*, Process Biochemistry, **39**, 599-613 (2004)
42. Chang, H., Yuan, X.-G. Tian, H., Zeng, A.-W., *Experiment and prediction of breakthrough curves for packed bed adsorption of water vapor on cornmeal*, Chemical Engineering and Processing, **45**, 747-754 (2006)
43. Chu, K.H., Hashim, M.A., *Copper biosorption on immobilized seaweed biomass: column breakthrough characteristics*, Journal of Environmental Sciences, **19**, 928-932 (2007)
44. Malkoc, E., Nuhoglu, Y., Dundar, M., *Adsorption of chromium (VI) on pomace – An olive oil industry waste: Batch and column studies*, Journal of Hazardous Materials, **138**, (142-151 (2006)
45. Li, Q., Su, H., Li, J., Tan, T., *Application of surface molecular imprinting adsorbent in expanded bed for the adsorption of Ni²⁺ and adsorption model*, Journal of Environmental Management, **85**, 900-907 (2007)
46. Ozdemir, O., Turan, M., Turan, A.Z., Faki, A., Engin, A.B., *Feasibility analysis of color removal from textile dyeing wastewater in a fixed-bed column system by surfactant-modified zeolite (SMZ)*, Journal of Hazardous Materials, **166**, 647-654 (2009)
47. Baral, S.S., Das, N., Ramulu, T.S., Sahoo, S.K., Das, S.N. Chaudhury, R., *Removal of Cr(VI) by thermally activated weed Salvinia cucullata in a fixed-bed column*, Journal of Hazardous Materials, **161**, 1427-1435 (2009)
48. Suksabye, P. Thiravetyan, P., Nakbanpote, W., *Column study of chromium (VI) adsorption from electroplating industry by coconut coir pith*, Journal of Hazardous Materials, **160**, 56-62 (2008)
49. Preetha, B., Viruthagiri, T., *Batch and continuous biosorption of chromium(VI) by Rhizopus arrhizus*, Separation and Purification technology, **57**, 126-133 (2007)
50. Kümmerer, K., *Antibiotics in the aquatic environment – A review – Part I*, Chemosphere, **75**, 417-434 (2009)
51. Stockinger, H., Heinzle, E., Kut, O., *Removal of Chloro and Nitro Aromatic Wastewater Pollutants by Ozonation and Biotreatment*, Environ. Sci. Technol., **29**, 2016-2022, (1995)
52. Addamo, M., Augugliaro, V., di Paola, A., García-López, E., Loddó, V., Marci, G., Palmisano, L., *Removal of drugs in aqueous systems by photoassisted degradation*, Journal of Applied Electrochemistry, **35**, 765-774 (2005)

53. Zazouli, M.A., Susanto, H., Nasser, S., Ulbricht, M., *Influences of solution chemistry and polymeric natural organic matter on the removal of aquatic pharmaceutical residuals by nanofiltration*, Water research, **43**, 3270-3280 (2009)
54. Morse, A., Jackson, A., *Fate of amoxicillin in two water reclamation system*, Water, Air & Soil Pollution, **157**, 117-132 (2004)
55. Adriano, W.S., Veredas, V., Santana, C.C., Gonçalves, L.R.B., *Adsorption of amoxicillin on chitosan beads: Kinetics, equilibrium and validation of finite bath models*, Biochemical Engineering Journal, **27**, 132-137 (2005)
56. Putra, E.K., Pranowo, R., Sunarso, J., Indraswati, N., Ismadji, S., *Performance of activated carbon and bentonite for adsorption of amoxicillin from wastewater: Mechanisms, isotherms and kinetics*, Water Research (2009), doi: 10.1016/j.watres.2009.02.039
57. Andreozzi, R., Canterino, M., Marotta, R., Paxeus, N., *Antibiotic removal from wastewaters: The ozonation of amoxicillin*, Journal of Hazardous Materials, **122**, 243-250 (2005)
58. Elmolla, E., Chaudhuri, M., *Improvement of Biodegradability of Synthetic Amoxicillin Wastewater by Photo Fenton Process*, World Applied Sciences Journal, **5**, 53-58 (2009)
59. Elmolla, E., Chaudhuri, M., *Optimization of Fenton process for treatment of amoxicillin, ampicillin and cloxacillin antibiotics in aqueous solution*, Journal of Hazardous Materials, (2009) doi:10.1016/j.jhazmat.2009.05.013
60. Trovó, A.G., Melo, S.A.S., Nogueira, R.F.P., *Photodegradation of the pharmaceuticals amoxicillin, bezafibrate and paracetamol by the photo-Fenton process - Application to sewage treatment plant effluent*, Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, **198**, 215-220 (2008)
61. Zhang, G., Ji, S., Xi, B., *Feasibility study of treatment of amoxicillin wastewater with a combination of extraction, Fenton oxidation and reverse osmosis*, Desalination, **196**, 32-42 (2006)
62. Ghauch, A., Tuqan, A., Assi, H.A., *Antibiotic removal from water: Elimination of amoxicillin and ampicillin by microscale and nanoscale iron particle*, Environmental Pollution, **157**, 1-10 (2009)
63. Arslan-Alaton, I., Dogruel, S., Baykal, E., Gerone, G., *Combined chemical and biological oxidation of penicillin formulation effluent*, Journal of Environmental Management, **73**, 155-163 (2004)
64. Kot-Wasik, A., Debska, J., Namiesnik, J., *Analytical techniques in studies of the environmental fate of pharmaceuticals and personal-care products*, Trends in Analytical Chemistry, **26**, 557-568 (2007)
65. Teixeira, S., Delerue-Matos, C., Alves, A., Santos, L., *Fast screening procedure for antibiotics in wastewaters by direct HPLC-DAD analysis*, J. Sep. Sci. 2008, **31**, 2924 - 2931
66. Nozal, L., Arce, L., Ríos, A., Valcárcel, M., *Development of a screening method for analytical control of antibiotic residues by micellar electrokinetic capillary chromatography*, Analytica Chimica Acta, **523**, 21-28 (2004)
67. Bailón-Pérez, M.I., García-Campaña, A.M., Cruces-Blanco, C., del Olmo Iruela, M., *Trace determination of β -lactam antibiotics in environmental aqueous samples using off-line and on-line preconcentration in capillary electrophoresis*, Journal of Chromatography, **1185**, 273-280 (2008)
68. Serrano, J.M., Silva, M., *Use of SDS micelles for improving sensitivity, resolution, and speed in the analysis of β -lactam antibiotics in environmental waters by SPE and CE*, Electrophoresis, **28**, 3242-3249 (2007)
69. Längin, A., Alexy, R., König, A., Kümmerer, K., *Deactivation and transformation products in biodegradability testing of β -lactams amoxicillin and piperacillin*, Chemosphere, **75**, 347-354 (2009)

70. Andreozzi, R., Canterino, M., Marotta, R., Paxeus, N., *Antibiotic removal from wastewaters: The ozonation of amoxicillin*, Journal of Hazardous Materials, **122**, 243-250 (2005)
71. Sacher, F., Lange, F.T., Brauch, H.J., Blankenhorn, I., *Pharmaceuticals in groundwaters: Analytical methods and results of a monitoring program in Baden-Württemberg, Germany*, Journal of Chromatography A, **938**, 199–210, (2001)
72. Minh, T.B., Leung, H.W., Loi, I.H., Chan, W.H., So, M.K., Mao, J.Q., Choib, D., Lam, J.C.W., Zheng, G., Martin, M., Leeb, J.H.W., Lam, Richardson, B.J., *Antibiotics in the Hong Kong metropolitan area: Ubiquitous distribution and fate in Victoria Harbour*, Marine Pollution, **58**, 1052-1062 (2009)
73. Cha, J.M., Yang, S., Carlson, K.H., *Trace determination of β -lactam antibiotics in surface water and urban wastewater using liquid chromatography combined with electrospray tandem mass spectrometry*, Journal of Chromatography, **1115**, 46-57 (2006)
74. Benito-Peña, E., Partal-Rodero, A.I., León-González, M.E., Moreno-Bondi, M.C., *Evaluation of mixed mode solid phase extraction cartridges for the preconcentration of beta-lactam antibiotics in wastewater using liquid chromatography with UV-DAD detection*, Analytica Chimica Acta, **556**, 415-422 (2006)
75. Ahmedna, M., Johns, M.M., Clark, S.J., Marshal, W.E., Rao, R.M., *Potential of Agricultural By-Product-Based Activated Carbons for use in Raw Sugar Decolourisation*, Journal of the Science of Food and Agriculture, **75**, 117-124 (1997)
76. Rivera-Utrilla, J., Bautista-Toledo, I., Ferro-García, M.A., Moreno-Castilla, C., *Activated carbon surface modifications by adsorption of bacteria and their effect on aqueous lead adsorption*, Journal of Chemical Technology and Biotechnology **76**, 1209-1215 (2001)
77. Effective HPLC method development, http://www.cvg.ca/images/HPLC_Method_Development.pdf, (acedido em Fevereiro 2009)
78. EURACHEM Working Group, *The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics*, 1st ed., Teddington, UK, 1998
79. Cabala, B., Tsyntsarskib, B., Budinovab, T., Petrovb, N., Parraa, J.B., Aniaa, C.O., *Improved phenol adsorption on carbons after mild temperature steam reactivation*, Journal of Hazardous Materials, **166**, 1289–1295 (2009)
80. Tchobanoglous, G., Burton, F.L., Stensel, Wastewater Engineering, <http://books.google.pt/> (acedido em Março 2009)
81. Qureshi, K., Bhatti, I., Kazi, R., Ansari, A.K., *Physical and Chemical Analysis of Activated Carbon Prepared from Sugarcane Bagasse and Use for Sugar Decolorisation*, International Journal of Chemical and Biomolecular Engineering, **1**, 145-149 (2008)
82. Khan, M., Sarwar, A., *Determination of points of zero charge of natural and treated adsorbents*, Surface Review and Letters, **14**, 461–469 (2007)
83. Sonnefeld, J., *On the influence of background electrolyte concentration on the position of the isoelectric point and the point of zero charge*, Colloids and Surfaces A, **190**, 179–183 (2001)
84. Khan, N., Sarwar, A., *Determination of points of zero charge of natural and treated adsorbents*, Surface Review and Letters, **14**, 461–469 (2007)

85. Faria, P.C.C., Orfão, J.J.M., Pereira, M.F.R., *Adsorption of anionic and cationic dyes on activated carbons with different surface chemistries*, Water Research, **38**, 2043–2052 (2004)
86. Goddard, A.F., Jessa, M., Barret, D.A., Shaw, P.N., Idström, J.P., Cederberg, C., Spiller, R.C., *Effect of Omeprazole on the Distribution of Metronidazole, Amoxicillin, and Clarithromycin in Human Gastric Juice*, Gastroenterology, **111**, 358-367 (1999)
87. Msagati, T.A.M., Nindi, M.M., Determination of β -lactam residues in foodstuffs of animal origin using supported liquid membrane extraction and liquid chromatography–mass spectrometry, Food Chemistry, **100**, 836-844 (2007)
88. *General HPLC Column Care*, <http://www.nestgrp.com/pdf/colcare.pdf> (acedido em Março de 2009)
89. Ratola, N., Santos, L., Herbert, P., Alves, A., *Uncertainty associated to the analysis of organochlorine pesticides in water by solid-phase microextraction/gas chromatography–electron capture detection—Evaluation using two different approaches*, Analytica Chimica Acta, 573-574, 202-208 (2006)
90. S.L.R. Ellison, M. Rosslein, A. Williams (Eds.), EURACHEM/CITAC Guide CG 4, Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement, 2nd ed., Teddington, UK, 2000
91. Miller, J.C., Miller, J.N., Statistics for analytical chemistry, 2nd Edition, Ellis Harwood Series in Analytical Chemistry, 1988, ISBN 0-7458-0271-0.
92. Alves, A., Apontamentos teóricos da disciplina de Projecto de Engenharia Química I – Módulo de Métodos Instrumentais de Análise, DEQ-FEUP, 2006
93. Sağ, Y., Aktay, Y., *Application of equilibrium and mass transfer models to dynamic removal of Cr(VI) ions by chitin in packed column reactor*, Process Biochemistry, **36**, 1187-1197 (2001)
94. Han, R., Wang, Y., Zou, W., Wang, Y., Shi, J., *Comparison of linear and nonlinear analysis in estimating the Thomas model parameters for methylene blue adsorption onto natural zeolite in fixed-bed column*, Journal of Hazardous Materials, **145**, 331-335 (2007)
95. Vijayaraghavan, K., Prabu, D., *Potential of Sargassum wightii biomass for copper(II) removal from aqueous solutions: Application of different mathematical models to batch and continuous biosorption data*, Journal of Hazardous Materials B, **137**, 558–564 (2006)
96. M. Ramirez C., M.P. Silva, S.G. Ferreira L., O. Vasco E., *Mathematical models applied to the Cr(III) and Cr(VI) breakthrough curves*, Journal of Hazardous Materials **146** (2007) 86-90
97. Kumar, U., Bandyopadhyay, M., *Fixed bed columns study for Cd(II) removal from wastewater using treated rice husk*, Journal of Hazardous Materials, **129**, 253-259 (2006)
98. Kundu, S., Gupta, A.K., *As(III) removal from aqueous medium in fixed bed using iron oxide-coated cement (IOCC): Experimental and modeling studies*, Chemical Engineering Journal, **129**, 123-131 (2007)
99. Kumar, P., Chakraborty, S., *Fixed-bed column study for hexavalent chromium removal and recovery by short-chain polyaniline synthesized on jute fiber*, Journal of Hazardous Materials, **162**, 1086-1098 (2009)
100. Maji, S.K., Pal, A., Pal, T., Adak, A., *Modeling and fixed bed column adsorption of As(III) on laterite soil*, Separation and Purification Technology, **56**, 284-290 (2007)
101. Ayoob, A., Gupta, A.K., Bhakat, P.B., *Analysis of breakthrough developments and modeling of fixed bed adsorption system for As(V) removal from water by modified calcined bauxite (MCB)*, Separation and Purification Technology, **52**, 430-438 (2007)
102. Adak, A., Bandyopadhyay, M., Pal, A., *Fixed bed column study for the removal of crystal violet (C.I. Basic Violet 3) dye from aquatic environment by surfactant-modified alumina*, Dyes and Pigments, **69**, 245-451 (2006)

Anexo 1 Modelos Teóricos de Adsorção em Leito Fixo

1. Análise matemática dos dados obtidos através de estudos de adsorção em coluna

O comportamento da adsorção de um determinado soluto sobre um adsorvente é representado pelas curvas de *breakthrough*. Estas são representadas por C/C_0 (razão entre a concentração de soluto à saída da coluna e a concentração à entrada) em função do tempo (t) ou do volume de efluente tratado (V_{ef}). Este pode ser determinado a partir da equação (3).

$$V_{ef} = Qt \quad (3)$$

A quantidade total de soluto adsorvido, numa coluna, para uma determinada concentração de alimentação (C_0) e um determinado caudal (Q), pode ser determinada através de [44]:

$$q_{tot} = QA = Q \int_0^t C_{ads} dt \quad (4)$$

Já a massa de soluto existente na solução de alimentação à coluna (m_{total}), a percentagem de soluto removido e a capacidade máxima de adsorção da coluna (q_{eq}) podem ser determinadas através das equações (X24), (X25) e (X26), respectivamente [44]:

$$m_{total} = C_0 Qt \quad (5)$$

$$\% \text{ Remoção} = \frac{q_{total}}{m_{total}} \times 100 \quad (6)$$

$$q_{eq} = \frac{q_{total}}{m_{ads}} \quad (7)$$

em que m_{ads} é a massa total de adsorvente colocada na coluna.

Ainda podem ser definidos três parâmetros importantes para o estudo da adsorção em coluna: o número de volumes de leito (BV), o tempo necessário para o efluente preencher a coluna vazia ($EBRT$) e a taxa de exaustão do adsorvente. As equações para determinar cada um destes parâmetros são as seguintes [44]:

$$BV = \frac{\text{volume de solução tratada}}{\text{volume do leito de adsorção}} = \frac{\text{tempo de operação}}{EBRT} \quad (8)$$

$$EBRT = \frac{\text{volume do leito}}{Q} \quad (9)$$

$$\text{taxa de exaustão do adsorvente} = \frac{m_{ads}}{V_B} \quad (10)$$

2. Modelo de Bohart-Adams

Em 1920, Bohart e Adams estabeleceram equações fundamentais para descrever a relação entre C/C_0 e t num sistema contínuo de adsorção de cloro em carvão activado. Embora o modelo original tenha sido aplicado a sistemas de adsorção gás - carvão, este tipo de abordagem tem sido aplicada com sucesso em outros sistemas. Este modelo é baseado na teoria da reacção à superfície, assumindo que o equilíbrio não é instantâneo [44]. Logo, a velocidade de adsorção é proporcional quer à capacidade residual do adsorvente, quer à concentração das espécies adsorvidas [47, 93], ou seja, admite que o processo de adsorção pode ser descrito por uma cinética quase-química [43]:

$$\frac{\partial q}{\partial t} = kC(q_s - q) \quad (11)$$

aonde q_s é a capacidade de saturação do material adsorvente e k a constante de velocidade.

Assim, combinando a equação (1) com a (11) e desprezando a dispersão axial, a solução analítica do sistema resume-se a [43]:

$$\frac{C}{C_0} = \frac{\exp\left(kC_0\left(t - \frac{L}{v}\right)\right)}{\exp\left(kC_0\left(t - \frac{L}{v}\right)\right) + \exp\left(\frac{kq_sL}{v}\left(\frac{1-\varepsilon}{\varepsilon}\right)\right) - 1} \quad (12)$$

Muitas vezes esta expressão pode ser simplificada assumindo que $t \gg L/v$ e considerando que $u = \varepsilon v$ e $N_0 = q_s(1 - \varepsilon)$, então:

$$\frac{C}{C_0} = \frac{\exp(kC_0t)}{\exp(kC_0t) + \exp\left(\frac{kN_0L}{u}\right) - 1} \quad (13)$$

em que u é a velocidade superficial e N_0 a capacidade de saturação do adsorvente por unidade de volume do leito fixo.

Normalmente, este modelo é apenas utilizado para descrever a parte inicial das curvas de *breakthrough* ($C/C_0 < 0,15$) [41].

3. Modelo de *Bed Depth Service Time* (BDST)

O modelo BDST proposto por Hutchins é uma versão modificada do de Bohart-Adams e descreve uma relação entre o tempo de serviço e a massa de adsorvente, expressa através da altura do leito [45, 46].

Este modelo assume que a difusão intra-particular e a resistência externa à transferência de massas são desprezáveis e que a cinética de adsorção é controlada pela reacção química à superfície entre soluto e solução [47].

Na equação 13, os termos exponenciais do denominador são geralmente muito maiores que a unidade, podendo este termo ser desprezado. Assim, a equação transforma-se em:

$$\frac{C}{C_0} = \frac{1}{1 + \exp\left(\frac{kN_0L}{u} - kC_0t\right)} \quad (14)$$

Tal como no modelo de Bohart-Adams, esta expressão é apenas utilizada para descrever a parte inicial da curva de *breakthrough* [48].

4. Modelo de Thomas

O modelo de Thomas é um dos mais utilizados no estudo do desempenho de colunas de leito fixo. Este modelo assume cinética de adsorção-dessorção de Langmuir, sem dispersão axial e que a força motriz obedece a uma cinética de reacção de segunda ordem reversível [47, 40]. Para além disso, pressupõe um factor de separação constante, sendo no entanto aplicável a isotérmicas favoráveis ou desfavoráveis [47].

A maior limitação deste modelo reside no facto do seu cálculo basear-se numa cinética de 2ª ordem, surgindo desvios significativos quando a cinética que rege o processo é diferente ou quando o passo controlante não é a reacção química, mas sim a transferência de massa.

O modelo de Thomas permite determinar a concentração máxima de analito presente na fase sólida, bem como a constante cinética de adsorção (Equação 15) [94].

$$\frac{C}{C_0} = \frac{1}{1 + \exp\left(\frac{k_{Th}q_0m_{ads}}{Q} - k_{Th}C_0t\right)} \quad (15)$$

em que, k_{Th} é a constante cinética de adsorção no modelo de Thomas, q_0 a concentração máxima de soluto na fase sólida, m_{ads} a massa de adsorvente que constitui o leito e Q o caudal do efluente a tratar.

5. Modelo de Yoon-Nelson

Yoon e Nelson desenvolveram um modelo menos complicado do que os descritos anteriormente para a adsorção de gases em carvão [47]. No entanto, a sua aplicação tem sido estendida a outros sistemas monocomponentes. Este modelo tem a vantagem de não necessitar de informações sobre as características do adsorbato e do adsorvente, bem como das propriedades físicas do leito de adsorção [41]. O modelo de Yoon-Nelson assume que a probabilidade de adsorção de uma molécula de adsorbato é inversamente

proporcional à cobertura da superfície e à probabilidade de *breakthrough* do leito. A equação que descreve este sistema é expressa por [87]:

$$\frac{C}{C_0} = \frac{1}{1 + (t_{0,5}k_{YN} - k_{YN}t)} \quad (16)$$

aonde $t_{0,5}$ e k_{YN} representam respectivamente tempo para o qual $C/C_0 = 0,5$ e a constante cinética de adsorção no modelo de Yoon-Nelson.

6. Modelo de Wolborska

O modelo desenvolvido por Wolborska é aplicado na definição da dinâmica do processo de adsorção na gama das baixas concentrações da curva de *breakthrough*, utilizando equações de transferência de massa para descrever os mecanismos de difusão. Assumindo que a concentração do analito na interface sólido-líquido é bastante inferior à concentração na solução, que a dispersão axial é desprezável e que a velocidade de migração é bastante inferior à velocidade superficial [41, 93] então:

$$\frac{C}{C_0} = \exp\left(\frac{\beta_a C_0}{N_0} t - \frac{\beta_a L}{u}\right) \quad (17)$$

Este modelo é utilizado para determinar o coeficiente cinético da transferência de massa externa, β_a .

7. Modelo de Chu

De modo a modelizarem as curvas de *breakthrough*, Belter e Cussler desenvolveram modelos simples, apenas com dois parâmetros, que vieram a ser modificados mais tarde por Chu. O primeiro modelo que foi desenvolvido apenas é capaz de modelizar curvas de *breakthrough* simétricas [43,94]:

$$\frac{C}{C_0} = \frac{1}{2} \left(1 + \operatorname{erf} \left[\frac{t - t_{0,5}}{\sqrt{2}\sigma_{0,5}} \right] \right) \quad (18)$$

em que $\operatorname{erf}[x]$ é a função erro de x e σ representa o desvio padrão (medida do declive da curva de *breakthrough*).

De modo a aumentar a aplicabilidade da equação 18, Chu efectuou algumas modificações para que esta fosse aplicável a curvas de *breakthrough* assimétricas [43, 94]:

$$\frac{C}{C_0} = \frac{1}{2} \left(1 + \operatorname{erf} \left[\frac{(t - t_{0,5}) \exp(\sigma t / t_{0,5})}{\sqrt{2}\sigma_{0,5}} \right] \right) \quad (19)$$

$$\frac{C}{C_0} = \frac{1}{2} \left(1 + \operatorname{erf} \left[\frac{(t - t_{0,5}) \exp(-\sigma t / t_{0,5})}{\sqrt{2}\sigma_{0,5}} \right] \right) \quad (20)$$

O tipo de mecanismo que controla o processo de adsorção influencia a forma das curvas. Este pode ser inferido não directamente através dos parâmetros do modelo, mas através de relações entre σ^2 , a velocidade superficial (u) e a altura da coluna (L). Estas relações estão indicadas na Tabela 24.

Tabela 24 – Características da variância para as curvas de *breakthrough* (adaptado de [43]).

Mecanismo controlante	σ^2
Equilíbrio	$\propto 1/L$
Cinética	$\propto u/L$
Transferência de massa	$\propto \sqrt{u}/L$
Dispersão	$\propto u/L$
Difusão	$\propto 1/(Lu)$

Embora, não se tenha aplicado os modelos que se seguem, entende-se que é importante fornecer algumas informações sobre outros modelos existentes.

8. Modelo de transferência de massa

Utilizando os resultados obtidos nos estudos *batch* das isotérmicas é possível prever as curvas teóricas de *breakthrough*. Estas deverão ser determinadas seguindo o subsequente procedimento [97-100]:

1. Traçar a linha de equilíbrio (neste caso, a isotérmica de adsorção de Langmuir);
2. No mesmo gráfico, traçar a linha de operação. Esta deverá passar pela origem e pelo ponto comum à linha de equilíbrio (C_0, q_e);
3. A velocidade de transferência do adsorbato da solução para a fase sólida pode ser representado por:

$$QdC = K_m(C - C_e)dh \quad (21)$$

em que, K_m é o coeficiente de transferência de massa global (que inclui a resistência oferecida pelo filme e pela difusão nos poros), C_e é a concentração de equilíbrio do analito na solução e dh uma altura diferencial do leito.

O termo $(C - C_e)$ corresponde à força motriz para a adsorção e pode ser determinada pela distância entre a linha de equilíbrio e a de operação, para qualquer valor de q_e . Integrando a equação anterior obtém-se:

$$h_z = \frac{Q}{K_m} \int_{C_B}^{C_E} \frac{dC}{(C - C_e)} \quad (22)$$

aonde, h_z corresponde à altura da zona de transferência, C_B a concentração do analito no efluente no ponto de *breakthrough* e C_E a concentração do analito no efluente no ponto de exaustão.

Representando $1/(C - C_e)$ em função de C é possível calcular o valor do integral através da determinação da área abaixo da curva entre o ponto de ruptura e exaustão. Para qualquer valor de h menor que h_z tem-se que:

$$h = \frac{Q}{K_m} \int_{C_B}^C \frac{dC}{(C - C_e)} \quad (23)$$

Dividindo a equação (23) pela (22) obtém-se:

$$\frac{h}{h_z} = \frac{\int_{C_B}^C \frac{dC}{(C - C_e)}}{\int_{C_B}^{C_E} \frac{dC}{(C - C_e)}} = \frac{V - V_B}{V_E - V_B} \quad (24)$$

em que, V_B e V_E são os volumes totais tratados até ao ponto de ruptura e de exaustão, respectivamente e V o volume de efluente tratado em qualquer ponto entre estes dois limites.

Para cada valor de C calcula-se $(V-V_B)/(V_E-V_B)$. A representação de C/C_0 em função da razão numérica anterior corresponderá à curva teórica de ruptura.

9. Avaliação dos parâmetros de *design* de uma coluna de adsorção

Numa coluna de adsorção ocorre transferência de massa entre a fase líquida (efluente) e a fase sólida (adsorvente). Surge assim o conceito de zona de transferência de massa (ZTM). A ZTM corresponde à porção efectiva do leito na qual o soluto presente no efluente de alimentação é transferido para a fase sólida do sistema. Ou seja, o processo de adsorção é confinado a uma zona estável e limitada da coluna, de rápida formação e que progride ao longo do leito. Este deslocamento é influenciado pelo caudal da alimentação, concentração do soluto e pela capacidade específica de adsorção do material adsorvente. Na verdade, a movimentação progressiva da ZTM ao longo do leito é representada pela curva de *breakthrough*. Na figura G encontra-se representada uma esquematização do movimento da zona de transferência de massa ao longo de um leito fixo, quer para um caso ideal, quer real [40].

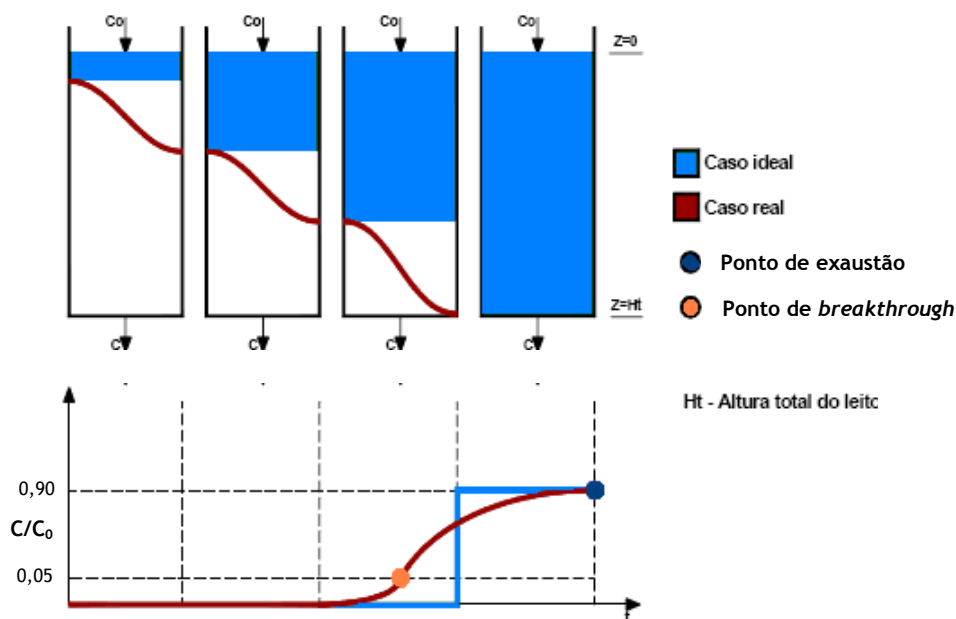


Figura 23 – Deslocação de ZTM ao longo de uma coluna de adsorção e representação de uma curva de ruptura para leito fixo.

O ponto de *breakthrough* e de exaustão são definidos arbitrariamente. Geralmente considera-se o ponto de breakthrough como 3-5% da concentração inicial do efluente ou se existir um limite legal para o analito em estudo, esse é fixado. O ponto de exaustão costuma ser fixado entre 90-95% da concentração inicial do efluente [40].

No desenvolvimento de um sistema de adsorção em leito fixo, existem vários parâmetros de *design* que devem ser avaliados. Alguns deles estão relacionados com a formação e movimentação da zona de adsorção ao longo do leito de adsorvente [46, 101, 102]. O tempo necessário para a zona de transferência se mover o seu próprio comprimento (t_z) é um dos parâmetros a ser determinados:

$$t_z = \frac{V_s}{Q} \quad (25)$$

aonde V_s corresponde ao volume tratado entre o *breakthrough* e a exaustão e Q ao caudal de efluente.

Já o tempo necessário para a ZTM se formar e abandonar o leito de adsorção (t_E) pode ser calculado:

$$t_E = \frac{V_E}{Q} \quad (26)$$

em que V_E é o volume total tratado até à exaustão.

A velocidade à qual a ZTM se move ao longo do leito de adsorção (U_z) e altura da própria zona de transferência (h_z) pode ser determinada através de:

$$U_z = \frac{L}{t_E - t_f} \quad (27)$$

e consequentemente,

$$h_z = \frac{L t_z}{t_E - t_f} \quad (28)$$

em que, L é a altura total do leito e t_f o tempo necessário para a zona de adsorção se formar ($t_f = (1-F)t_z$).

No ponto de *breakthrough*, a fracção de adsorvente presente na ZTM que ainda é capaz de remover analito (F) é calculado a partir da expressão:

$$F = \frac{\int_{V_B}^{V_E} (C_0 - C) dV}{C_0 (V_E - V_B)} \quad (29)$$

em que C_0 é a concentração inicial de soluto, C a concentração do soluto a cada instante e V_B o volume tratado até ao ponto de *breakthrough*.

Finalmente, ainda pode ser determinada a percentagem do leito de adsorvente que está saturado no ponto de ruptura:

$$\text{Saturação (\%)} = \frac{L + (F - 1)h_z}{L} \quad (30)$$

Anexo 2 Determinação da Recta de Calibração

Na tabela seguinte apresentam-se os resultados na análise dos padrões de amoxicilina preparados para a realização da recta de calibração.

Tabela 25 – Resultados obtidos das análises dos padrões de amoxicilina para obtenção da recta de calibração

Padrão	Concentração (ppb)	Tempo de Retenção	Área (mUA.min)	Média das Áreas	Desvio padrão (mUA.min)	CV (%)
1	24,84	8,907	10309	10741	610	5,68
		8,967	11172			
2	49,68	8,900	20231	20437	291	1,42
		8,893	20642			
3	99,36	8,900	46697	47356	932	1,97
		9,880	48015			
4	198,72	8,827	94376	95435	1497	1,57
		8,747	96493			
5	298,08	8,827	146740	148880	3026	2,03
		8,767	151019			
6	400,20	8,667	192401	194061	2347	1,21
		8,793	195720			
7	502,32	8,687	264770	263534	1749	0,66
		8,713	262297			

Com os resultados indicados na tabela anterior foi possível construir-se a recta de calibração e determinar os parâmetros necessários ao estudo da linearidade.

Tabela 26 – Parâmetros necessários ao estudo da linearidade da resposta do HPLC à amoxicilina.

Padrão	x_i	y_i	$(x_i)^2$	$x_i - \bar{x}$	$(x_i - \bar{x})^2$	$y_i - \bar{y}$	$(y_i - \bar{y})^2$	$(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})$	$y_{\text{calib.}}$	$y_i - y_{\text{calib.}}$	$(y_i - y_{\text{calib.}})^2$
P1	24,84	10741	617	-200	39961	-100751	10150778394	20140427	7683	3058	9348831
P2	49,68	20437	2468	-175	30647	-91055	8291026033	15940361	20582	-146	21233
P3	99,36	47356	9872	-125	15721	-64136	4113371522	8041501	46381	975	950984
P4	198,72	95435	39490	-26	677	-16057	257829543	417851	97978	-2544	6469486
P6	298,08	148880	88852	73	5378	37388	1397857203	2741924	149575	-696	484027
P7	400,20	194061	160160	175	30785	82569	6817627965	14487308	202606	-8545	73020082
P8	502,32	263534	252325	278	77049	152042	23116748044	42203364	255636	7897	62368344
Média	224,74	111492	111492	--	--	--	--	--	--	--	21808998
Soma	1573,20	780441	553784	0	200219	0	54145238704	103972736	780441	0	152662987

A recta de calibração é dada pela seguinte expressão:

$$\text{Área} = (a \pm ts_a)C + (b \pm ts_b) \quad (31)$$

Em que, a – declive da recta de calibração

b – ordenada na origem

s_a – desvio - padrão do declive

s_b – desvio - padrão da ordenada na origem

t – t de *Student*

C - concentração

O declive e a ordenada na origem são determinados com base nas seguintes expressões:

$$a = \frac{\sum_i (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sum_i (x_i - \bar{x})^2} \quad (32)$$

$$b = \frac{\sum_i y_i}{n} - a \frac{\sum_i x_i}{n} \quad (33)$$

Em que, x_i – concentração da solução – padrão

y_i – área

\bar{y} – média do valor das áreas

n – número de pontos experimentais

Depois de se ter determinado o declive e a ordenada na origem é necessário calcular os desvios – padrão. Ou seja,

$$s_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum_i (y_i - \hat{y})^2}{n - 2}} \quad (34)$$

$$s_a = \sqrt{\frac{n s_{y/x}^2}{n \sum_i x_i^2 - \left(\sum_i x_i\right)^2}} \quad (35)$$

$$s_b = \sqrt{\frac{s_{y/x}^2 \sum_i x_i^2}{n \sum_i x_i^2 - \left(\sum_i x_i \right)^2}} \quad (36)$$

Em que, $s_{y/x}$ – desvio – padrão residual

Finalmente determinou-se o intervalo de confiança do declive e ordenada na origem, com t de *Student* para $n-2$ graus de liberdade e um nível de confiança de 95%:

$$IC(a) = ts_a \quad (37)$$

$$IC(b) = ts_b \quad (38)$$

De seguida apresentam-se os resultados obtidos para a recta de calibração.

Tabela 27 – Resultados do estudo da linearidade da resposta do HPLC à Amoxicilina

a	519
b	5216
s_{y/x}	5526
s_a	12
s_b	3473
t	2571
IC(a)	32
IC(b)	8929
R	0,999

A recta de calibração necessária à quantificação da Amoxicilina é então dada por:

$$\text{Área} = (519 \pm 32) \cdot C_{\text{Amox}} - (5216 \pm 8929) \quad (39)$$

A partir dos resultados expressos acima foi possível obter as bandas de confiança para cada valor da recta de calibração (Tabela 28).

Tabela 28 – Intervalos de confiança da recta de calibração para um grau de confiança de 95%.

a	519
IC(a)	32
a_{max}	551
a_{min}	488
b	5216
IC(b)	8929
b_{max}	3712
b_{min}	-14145

Geralmente é considerado adequado um método analítico para uso em análise quando cumpre os seguintes critérios:

- Desvio-padrão relativo de declive (s_a/a) < 5%
- A ordenada na origem contiver a origem ($b-s_b < 0 < b+s_b$)
- O coeficiente de correlação, $r > 0,995$

Sendo o coeficiente de correlação dado por:

$$r = \frac{\sum_i (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum_i (x_i - \bar{x})^2} \sqrt{\sum_i (y_i - \bar{y})^2}} \quad (40)$$

Os parâmetros para esta recta de calibração, encontram-se resumidos na tabela seguinte:

Tabela 29 – Parâmetros referentes a linearidade da recta de calibração.

s_a/a	b-s_b	b+s_b	r
2%	8690	-1743	0,999

Os limites de detecção e de quantificação foram determinados com base na razão de sinal ruído determinado para o padrão de concentração mais alta ($S/N = 174,28$):

$$LD = 3 \times S/N \quad (41)$$

$$LQ = 10 \times \frac{S}{N} \quad (42)$$

Assim os limites de detecção e de quantificação para este método de determinação da Amoxicilina em HPLC são respectivamente:

Tabela 30 – Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) para a recta de calibração.

LD	9 ppb
LQ	29 ppb

Anexo 3 Determinação da Incerteza Global

1. Incerteza associada à preparação de padrões, U_1

As incertezas associadas à preparação dos padrões foram determinadas recorrendo à expressão:

$$U_1 = u_{st} = \sqrt{\sum_i \left(\frac{\Delta m_i}{m_i} \right)^2} \quad (43)$$

em que Δm_i é o erro associado a um equipamento de medida e m_i o valor medido por este equipamento.

As incertezas associadas aos equipamentos de medida foram estimadas a partir dos intervalos de confiança indicados nos mesmos e considerando uma distribuição triangular. De acordo com a EURACHEM [71], se um limite $\pm a$ é dado sem um limite de confiança e os valores extremos do intervalo não são prováveis, normalmente é apropriado assumir uma distribuição triangular, ou seja,

$$u(x) = \frac{a}{\sqrt{6}}.$$

2. Incerteza associada à recta de calibração, U_2

A incerteza associada à construção da curva de calibração foi calculada através da razão entre o desvio-padrão para uma dada concentração, s_{x0} , e a respectiva concentração padrão calculada através da recta, x_0 .

$$U_2 = \frac{s_{x0}}{x_0} = \frac{1}{x_0} \frac{s_{y/x}}{b} \left\{ \frac{1}{m} + \frac{1}{n} + \frac{(y_0 - \bar{y})^2}{b^2 \sum_i (x_i - \bar{x})^2} \right\}^{1/2} \quad (44)$$

em que $s_{y/x}$ é o desvio-padrão, b o declive da regressão linear, m o número de replicados efectuados para cada valor de x_i , n corresponde ao número de padrões utilizados na construção da recta de calibração, y_0 é o valor de y calculado pela recta de calibração para cada valor de x_i , \bar{y} é a média dos valores de y experimentais, x_i é o valor da concentração do padrão i utilizado na recta de calibração e \bar{x} corresponde à média dos valores de x_i .

3. Incerteza associada à precisão, U_3

O valor da incerteza associada à precisão foi calculado a partir da seguinte expressão:

$$U_3 = \frac{s}{x_0 n^{1/2}} \quad (45)$$

em que s é o desvio-padrão dos ensaios de precisão, x_0 a concentração do padrão calculada através da recta e n o número de ensaios.

4. Incerteza associada à exactidão, U_4

De uma forma semelhante é calculada a incerteza associada à exactidão:

$$U_4 = \frac{s(\eta)}{n^{1/2}} \quad (46)$$

Em que $s(\eta)$ é o desvio-padrão relativo da percentagem média de recuperação e n o número de ensaios.

5. Incerteza Global, U

A incerteza global é determinada pela raiz quadrada da soma dos quadrados de cada uma das incertezas mencionadas anteriormente, ou seja,

$$U = \sqrt{U_1^2 + U_2^2 + U_3^2 + U_4^2} \quad (47)$$